Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

01 698

43- C37ba
v.17, 1907

W. G. FARLOW

43 C37ba v.17

Harvard University

FARLOW
REFERENCE LIBRARY
OF
CRYPTOGAMIC BOTANY

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

# CENTRALBLATT

für

# Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

**Zweite Abteilung. XVII. Band.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

# CENTRALBLATT
für
# Bakteriologie, Parasitenkunde
## und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

**Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin**

und

**Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.**

**Zweite Abteilung. XVII. Band.**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.**

**Mit 33 Tafeln und 83 Abbildungen im Texte.**

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1907.

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 1|2.

*Nachdruck verboten.*

**Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.**

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen [1]).

Von **H. Will.**

## II. Mitteilung.

Durch die Versuche, mit welchen sich die I. Mitteilung beschäftigte, war festgestellt worden, daß die meisten der vorliegenden Sproßpilze sich während der Hauptgärung von untergäriger Bierhefe in gehopfter Würze überhaupt nicht oder nur in sehr geringem Umfang vermehren. Sie werden sowohl bei schwacher wie bei starker Einsaat meist schon während der ersten Gärung, sicher aber nach mehreren Gärungen unterdrückt.

Als Versuchshefen waren früher die beiden bekannten, extreme Typen repräsentierenden Hefen unserer Sammlung, Stamm 93 und 7, gewählt worden. Später wurde gelegentlich noch eine andere untergärige Bierhefe, Rasse P, dann die bekannten wilden Hefen Sacch. turbidans Hansen (früher Sacch. ellipsoideus II) und Sacch. validus Hansen (früher Sacch. Pastorianus III) genau in derselben Weise wie früher bei starker Einsaat geprüft.

Von allen Organismen vermochte bei den früheren Versuchen nur No. 15 lebhaft gärender Hefe Widerstand zu leisten, war jedoch bei der fünften und sechsten Ueberimpfung ebenfalls unterdrückt. Bei dem später mit der untergärigen Bierhefe P durchgeführten Versuch überdauerten außer No. 15 auch noch die Arten No. 2 und 5 die Hauptgärung. Nach einer Ueberimpfung aus den aufgeschüttelten Kulturen in frische Würze war nur No. 2 völlig unterdrückt, No. 5 jedoch schon sehr in den Hintergrund gedrängt; es fanden sich nach 40 Tagen lebende und sprossende (mehrgliederige Sproßverbände) Zellen von No. 5 zwar in größerer Zahl, immerhin war deren Menge gering. Die Art No. 15 hatte dagegen innerhalb des gleichen Zeitraumes auf den Kulturen eine ungemein starke Haut mit dem für diese Art charakteristischen Aussehen erzeugt.

Damit ist ein weiteres Beispiel für die verschiedene Widerstandsfähigkeit der vorliegenden Sproßpilze gegenüber verschiedenen Rassen von Bierhefe gegeben.

Bei der Vergärung der gehopften Würze von 11,5 Proz. B. durch Sacch. turbidans und Sacch. validus blieb nur mehr No. 2 und 15 lebend. Nach einer Ueberimpfung aus den aufgeschüttelten ersten Kulturen in frische Würze war auch hier No. 2 völlig unterdrückt,

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXIX. 1906. p. 241; vergl. d. Centralbl. Bd. X. 1903. p. 689.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

während die Art No. 15 ihre Lebenszähigkeit wieder durch eine starke Haut nach Verlauf eines Monates bewies.

In der I. Mitteilung war kurz über einen Versuch berichtet worden, durch welchen die Vermehrungsfähigkeit der Organismen in Bier dargetan werden sollte. Das Ergebnis war, daß sich mit Ausnahme von No. 7 und 8 alle übrigen mehr oder minder stark in dem Versuchsbier mit einem Alkoholgehalt von 3,57 Gew.-Proz. und 5,175 Proz. Extrakt vermehrten. Bei diesem Versuch waren nur 20 ccm Bier, welche sich in etwa 2 cm hoher Schicht in Erlenmeyer-Kölbchen befanden, in Anwendung gebracht worden. Jedenfalls konnte bei dieser Versuchsanstellung reichlich Luft zur Einsaat hinzutreten und mag durch diesen Umstand die Entwickelung der sauerstoffliebenden Organismen begünstigt worden sein. Daher drängte sich die Frage auf, ob sich diese auch in größeren Mengen, in einer hohen Schicht von Bier zu entwickeln vermögen, da hier die Luft nicht in allen Teilen in so ausgiebiger Weise wie bei den geringen Mengen des ersten Versuches hinzutreten kann. Zu diesem Zweck wurde ein Versuch ausgeführt, der allerdings nicht direkt mit dem I. vergleichbar ist, da ein anderes Bier verwendet werden mußte und außerdem der Alkoholgehalt, 4,49 Proz., ein höherer war. Die Extraktmenge betrug 5,45 Proz., die Acidität 0,15 Proz. Milchsäure. Gleichwohl läßt er Schlüsse ziehen, da gleichzeitig ein Kontrollversuch mit 10 ccm des verwendeten Reinhefebieres unter Watteverschluß nebenherlief.

Bezüglich der Versuchsanstellung sei auf die Originalmitteilung verwiesen. Bemerkt sei nur, daß je 2 mit Reinhefebier gefüllte Flaschen mit je einer Platinöse der bei 25° C in gehopfter Würze herangezüchteten Organismen geimpft wurden. Die eine der Flaschen wurde unter dichtem, die andere unter Watteverschluß im Keller aufgestellt.

Im Kontrollversuch vermochten sich die meisten der Organismen in dem Bier unter den gegebenen Bedingungen zu vermehren.

Das Bier in den Flaschen ließ während des ersten Monates der Beobachtung keine besonderen Erscheinungen erkennen. Erst gegen Mitte des zweiten Monates waren bei einzelnen Flaschen mit Watteverschluß Anfänge zu Hautbildung bemerkbar. Trübung oder Schleierbildung konnte während dieser Zeit bei der oft vorgenommenen Durchsicht nicht beobachtet werden.

Nach 2 Monaten konnten weder direkt durch die mikroskopische Untersuchung, und zwar sowohl in der Flasche mit dichtem als auch mit Watteverschluß lebende Zellen nachgewiesen werden bei No. 1, 3, 4, 6—10 und 12; in der Flasche mit dichtem Verschluß nicht bei No. 2, 5, 11 und 16. Direkt nicht nachweisbar waren lebende Zellen in den Flaschen mit Watteverschluß bei No. 5, doch konnten solche durch die Saccharosebehandlung nachgewiesen werden. Dagegen hatte sich auf der Flasche mit Watteverschluß bei No. 2 und 11 eine mäßige Haut gebildet und fanden sich auch zahlreiche Zellen, bei No. 11 sogar sehr große Mengen von Zellen dieses Organismus im Absatz vor. Die Flasche mit No. 16 wies eine sehr starke Haut und einen ziemlich starken Absatz auf.

Am widerstandsfähigsten war auch hier wieder die Art No. 15. Wenn auch in der Flasche mit dichtem Verschluß die Gegenwart von lebenden Zellen nicht bestimmt nachzuweisen war, so ergab dies die Saccharosebehandlung unzweifelhaft. Die Einsaat hatte sich hier sichtlich noch vermehrt. In der Flasche mit Watteverschluß befand sich eine sehr starke Haut und ein ziemlich starker Absatz.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine geringe Vermehrung der Einsaat hatte sehr wahrscheinlich auch bei No. 11 in der Flasche mit dichtem Verschluß stattgefunden.

Das Bier in den Kontrollflaschen war blank und in der Flasche unter Watteverschluß frei von einer Haut; Absätze gering.

Also auch dann, wenn das konsumreife Bier auf der Flasche mit kräftigen Zellen der vorliegenden Organismen infiziert werden sollte, erscheint bei gutem, dichtem Verschluß der Flaschen, also bei möglichstem Entzug von Luft, dessen Beeinträchtigung so gut wie ausgeschlossen, um so mehr als auch durch die Entwickelung der Organismen der Geschmack des Bieres, soweit sich dieser bei dem aus sterilisierter Würze hergestellten Reinhefebier beurteilen ließ, nicht beeinflußt war.

---

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

Im Jahre 1903 habe ich ausführlich in der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen [1]) und dann später in gekürzter Form in diesem Centralblatt [2]) über Untersuchungen berichtet, welche die praktische Bedeutung einer Reihe von Sproßpilzen für den Brauereibetrieb klarlegen sollten. Eine zweite Mitteilung erfolgte im laufenden Jahre ebenfalls in den beiden genannten Zeitschriften [3]). Die untersuchten Organismen, 15 an der Zahl, gehören, wie sich später ergeben wird, verschiedenen Gruppen von Sproßpilzen an. Sie unterscheiden sich von den echten Hefen, den Saccharomyceten, durch den Mangel der Sporenbildung, wenigstens ist es bei verschiedenen dahin zielenden Versuchen, über welche an geeigneter Stelle berichtet werden wird, niemals gelungen, die Entwickelung endogener Sporen hervorzurufen. Ebensowenig konnten in den zahlreichen Präparaten, welche während eines Zeitraums von nahezu 3 Jahren bei allen Versuchsanstellungen mikroskopisch durchmustert wurden, irgendwelche Andeutungen von Sporenbildung beobachtet werden.

Wie ich schon in der I. Mitteilung ausgeführt habe, begegnen wir Sproßpilzen ohne Sporenbildung im Brauereibetrieb an den verschiedensten Stellen. Würzeproben vom Kühlschiff, von Leitungen, von Kühlapparaten u. s. w. enthalten wohl stets Vertreter der Gruppe Torula, mindestens in Spuren. Bei der biologischen Untersuchung von Brauwassern, bei der Untersuchung der Luft in Brauereibetrieben treffen wir Torula-Arten regelmäßig an. An den Außenwandungen der Gärbottiche, an deren innerem Rand, an den Wandungen der Lagerfässer, da, wo sich schwache weiße Ueberzüge gebildet haben, an den Spundlöchern der Lagerfässer, an den Zapfen der Gärbottiche, an den feuchten Kellerwänden, schier überall begegnen wir diesen Sproßpilzen. Sie gehören neben den gewöhnlichen Schimmelpilzen, soweit unsere Erfahrungen reichen, zu den am weitesten verbreiteten Pilzen; sie siedeln sich auf

1) Bd. XXVI. p. 265.
2) Bd. X. p. 689.
3) Z. f. d. ges. Brauw. Bd. XXIX. 1906. p. 241. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 1.
4) Lafar, Franz, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. IV. Abschnitt 5.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

organischen Substanzen verschiedenster Art an und entwickeln sich hier oft in geradezu erstaunlichen Mengen. Nebenbei bemerkt, bestehen beispielsweise die dicken, weißgelben Beläge auf Dauerwurstwaren, auf gewissen Hartkäsen oft ausschließlich aus Torula-Arten. Bei der Verwesung mancher Pflanzenreste scheinen sie ebenfalls eine Rolle zu spielen. Für das wirtschaftliche Leben gewisser asiatischer Völkerschaften sind die milchzuckervergärenden Torula-Arten von größter Bedeutung. Näher soll hierauf, sowie auf die ziemlich umfangreiche Literatur, welche sich mit diesen Sproßpilzen beschäftigt, um so weniger eingegangen werden, als ich letztere an anderer Stelle[4]) zusammengefaßt habe.

Neben diesen zur Gruppe Torula nach Maßgabe gewisser für diese Sproßpilze charakteristischer morphologischer Eigentümlichkeiten zu stellenden Organismen finden sich nicht selten andere, deren vegetative Vermehrung, soweit wir sie kennen, sich ebenfalls nur durch Sprossung vollzieht. Sie stehen teilweise den typischen Torula-Arten sehr nahe, teils haben sie eine gewisse Aehnlichkeit mit den Arten der Gruppe Monilia, unterscheiden sich jedoch von diesen durch den Mangel eines echten Mycels. Andere Arten stehen der Gruppe Mycoderma nahe.

Während der langen Reihe von Jahren, während welcher ich mich an der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München mit biologischen Untersuchungen für die Zwecke der Brauerei beschäftigte, habe ich auch diesen Organismen meine Aufmerksamkeit zugewendet und im Laufe der Zeit von ihnen eine größere Sammlung in absoluten Reinkulturen angelegt. Sie müssen um so mehr beachtet werden, als wir ihnen tagtäglich bei unseren Untersuchungen begegnen und wir tagtäglich in die Lage versetzt werden, uns ein Urteil darüber bilden zu müssen, ob gegebenenfalls eine Infektion mit diesen Organismen irgend eine Schädigung im Brauereibetrieb, insbesondere einen Einfluß auf den Geschmack und Geruch, die Klarheit und Haltbarkeit u. s. w. des Bieres ausübt.

Die Herkunft der zunächst in Angriff genommenen Organismen der Sammlung war folgende. Die beigefügten Nummern beziehen sich auf die Nummern der Sammlung.

No. 1, 2, 9, 10, 15, 16 und 17 stammen aus Brauwasser sehr verschiedener Gegenden, No. 3 und 4 aus der Luft in der Nähe eines Brauereibetriebes, in welcher sie sich in ungemein großer Zahl vorfanden, No. 6 und 7 aus der Luft eines Gärkellers, No. 5 nnd 11 aus Kühlschiffwürze, No. 8 aus einem Bier, No. 12 von Weintrauben.

In Hinsicht auf die für uns im Vordergrund stehenden praktischen Fragen wurde zunächst das Verhalten dieser Organismen in gehopfter Würze, dann mit Rücksicht auf die Hefenanalyse nach der sogenannten Weinsäuremethode die Widerstandsfähigkeit gegen die Behandlung mit 4-proz. Weinsäurelösung, ferner das Verhalten bei gleichzeitiger Gegenwart von Kulturhefe und schließlich die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen untersucht. Das Ergebnis, zu welchem diese Untersuchungen führten, war folgendes. „Für die genannten Sproßpilze ist gehopfte Bierwürze ein guter Nährboden und vermögen sie sich auch bei den niederen Temperaturen, bei welchen die Hauptgärung von untergärigem Bier verläuft, wenn auch nur langsam und in verschiedenem Grade (meist jedoch nur in geringem) zu vermehren. Geschmack und Geruch der Würze werden hierbei beeinflußt. In keinem Falle tritt jedoch der Geschmack und der Geruch in auffälliger oder aufdringlicher Weise hervor.“

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Die Würze wird durch die Sproßpilze, wenn überhaupt, nur in geringem Grade entfärbt. Die Acidität derselben nimmt in den meisten Fällen während der Entwickelung der Sproßpilze ab."

„Die meisten der vorliegenden Sproßpilze können sich während der Hauptgärung von untergäriger Bierhefe in gehopfter Würze überhaupt nicht oder nur in sehr geringem Umfang vermehren; sie werden sowohl bei schwacher wie bei starker Einsaat meist schon während der ersten Gärung, sicher aber nach mehreren unterdrückt. Die gärende Hefe scheint auch dann noch ein Hemmnis für die Sproßpilze zu sein, wenn die Gärtätigkeit, wie bei der Nachgärung, schon sehr vermindert ist. Dagegen vermögen die meisten der vorliegenden Sproßpilze in möglichst hefefreiem Bier bei Luftzutritt zu wachsen. Wenn sie daher während der Gärung unterdrückt werden, so können nicht der Alkohol oder andere giftig wirkende Umsatzprodukte der Bierhefe eine Hauptrolle dabei spielen."

„Krankheitserscheinungen wie Beeinflussung des Geruches, Trübung oder Fadenziehen wurden während der Entwickelung der Sproßpilze im Bier nicht beobachtet."

„Eine Benachteiligung des Brauereibetriebes durch die vorliegenden Sproßpilze ist also, soweit die Beobachtungen an den bis jetzt abgeschlossenen Versuchen reichen, nicht zu befürchten."

Schon in der ersten Mitteilung habe ich eine kurze Charakteristik der untersuchten Organismen durch Beschreibung der Form der Zellen und der Wachstumserscheinungen, wie sie sich in 1 Monat alten, bei Zimmertemperatur gehaltenen Würzekulturen darbieten, gegeben. Diese kurzen Angaben können keinesfalls genügen, um die einzelnen Arten der Sproßpilze zu umgrenzen, welche zu den beschriebenen Versuchen gedient hatten und deren Unschädlichkeit für den Brauereibetrieb dargetan worden war. Zu diesem Zweck waren eingehende morphologische und physiologische Untersuchungen notwendig. Ich habe die Bestimmung der diagnostischen Merkmale um so lieber ausgeführt, als mir bei einem Studium der einschlägigen Literatur sehr bald klar wurde, wie wenige der zu der anscheinend artenreichen Gruppe der Sproßpilze ohne Sporenbildung gehörigen Formen bis jetzt so eingehend untersucht sind, daß sie jederzeit wieder diagnostiziert werden können.

Mit den folgenden Untersuchungen ein völlig abgeschlossenes Bild der Organismen geben zu wollen, beanspruche ist keineswegs. Insbesondere in chemisch-physiologischer Beziehung würde noch manches zu ergänzen gewesen sein; so wäre noch auf gewisse enzymatische Wirkungen, wie diastatische, fettspaltende u. s. w. zu prüfen. Ich behalte mir vor, auf die noch unerledigten Fragen zurückzukommen. Zunächst mußte ich, sollte ein vorläufiger Abschluß nicht wieder hinausgeschoben werden, von deren Bearbeitung absehen. Immerhin glaube ich, daß die einzelnen Organismen schon mehr als hinreichend charakterisiert sind. Jedenfalls wird man sich aber immer daran erinnern müssen, daß die Identifizierung einer gerade vorliegenden Art mit einer der beschriebenen durchaus nicht einfach ist, und daß es umfassender, für einzelne charakteristische Erscheinungen sogar lang ausgedehnter Beobachtungen bei guter Schulung des Auges und völligem Vertrautsein mit der vorliegenden Organismengruppe bedarf, bis ein abschließendes Urteil gewonnen werden kann. Trotz gleicher äußerer Bedingungen hinsichtlich Nährlösung, Temperatur u. s. w. kann beispielsweise auf einer Kultur Hautbildung ausbleiben, während sie auf einer anderen leicht und mit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allen charakteristischen Erscheinungen auftritt. Ferner möchte ich anführen, daß die Art No. 11 lange Zeit hindurch als ein Vertreter der Torula-Formen im Sinne von Hansen gelten mußte, bis sich schließlich doch noch in sehr alten Kulturen fest zusammenhängende Sproßverbände keulenförmiger und fast wurstförmiger Zellen fanden, die nicht als abnorme Bildungen angesprochen werden konnten. Gewisse Färbungen der Kulturen, wie schwach rosarote und andere, kommen nicht immer zum Vorschein; sie sind überhaupt keine regelmäßig wiederkehrende Erscheinung.

Ein nicht unwichtiges Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen dürfte darin liegen, daß allgemeine Gesichtspunkte gewonnen wurden, nach welchen sich ähnliche Organismen nicht unschwer vorläufig werden klassifizieren lassen.

## Allgemeine Morphologie.

Die Form und Größe der Zellen, mit welchen die untersuchten Sproßpilze auftreten, ist eine sehr verschiedenartige. Teilweise zeigen sie nur gedrungenere Zellen, entweder streng kugelförmige oder mehr oder weniger ellipsoidische; letztere sind bei einzelnen Arten auch mehr oder minder deutlich an den beiden Polen oder nur an einem zugespitzt. Bei der gleichen Art variiert in der gleichen Nährlösung die Zellform nur unbedeutend, zuweilen jedoch auch recht beträchtlich. Neben streng kugelförmigen finden sich dann auch ellipsoidische und selbst gestreckt-ellipsoidische, sowie langgestreckte, pastoriane und spindelförmige Zellen, insbesondere in sehr alten Kulturen vor. Größere Sproßverbände bilden diese Zellen jedoch nicht. Bei den Arten mit durchschnittlich kugelförmigen Zellen wachsen nur einzelne auch mit wurstförmigen oder unregelmäßig gestalteten Tochterzellen; zur Bildung von Sproßverbänden solcher Zellen kommt es jedoch nicht. Bei anderen Arten, bei welchen oft jahrelang nur kugelförmige Zellen beobachtet werden, treten in einzelnen Kulturen ohne erkennbare Ursache auch gestreckte, wenn auch nur kurze Zellen in Sproßverbänden auf. Abnorme Zellbildung, wie in anderen Fällen, liegt bei der Regelmäßigkeit der Zellform und dem festen Zusammenhalt der Sproßverbände nicht vor. Solche Vorkommnisse erschweren ein abschließendes Urteil ungemein und lassen noch immer berechtigte Zweifel darüber aufkommen, ob nicht die Arten mit kugelförmigen Zellen überhaupt, bei welchen wir bis jetzt Sproßverbände gestreckter Zellen nicht gefunden haben, nicht doch noch solche unter bestimmten Bedingungen bilden. Die Umgrenzung für die Gruppe Torula, wie sie Hansen angibt, wäre damit nicht mehr aufrecht zu erhalten.

Selbst Apiculatus-ähnliche Zellen finden sich bei einzelnen Arten der vorliegenden Sproßpilze vor.

Die Größe der Zellen bewegt sich bei diesem Formenkreis innerhalb weiter Grenzen. Teilweise durchschnittlich von der Größe der Kulturhefezellen, geht der Durchmesser bis auf einige Mikromillimeter herab. Auch bei derselben Art variiert die Größe nach der Zusammensetzung der Nährlösung und werden die Zellen teilweise so klein, daß sie mit Kugelbakterien verwechselt werden können. In Milchkulturen, sowie in der Hayduckschen Nährlösung blieben die Zellen im allgemeinen kleiner. Dagegen sind sie in den Hautbildungen (Haut oder Ring) gewöhnlich durchschnittlich größer und kräftiger, sowie dickwandiger als im Absatz.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine sehr auffällige und regelmäßige Erscheinung sind „Riesenzellen“, die sich nicht nur auf den Formenkreis mit gedrungeneren Zellformen beschränkt, sondern auch bei den anderen Gruppen mit gemischter Zellform, vorkommt. Es sind dies meist kugelförmige Zellen, deren Durchmesser um das Mehrfache des durchschnittlichen größer ist. Sie erreichen oft den 3- und 4-fachen Umfang der gewöhnlichen Zellen. Meist sind sie wie die Riesenzellen mancher Saccharomyceten bei reich vakuolisiertem, schaumigem Plasma sehr hinfällig. Bis jetzt ließen sich keine Anhaltspunkte dafür gewinnen, ob es abnorme, pathologische Zellen sind, oder ob sie etwa mit bestimmten Funktionen ausgestattet sind. Ihre Hinfälligkeit würde mehr dafür sprechen, daß es sich um pathologische Formen handelt. Die Riesenzellen erzeugen entweder ausschließlich wieder solche oder sie bringen normale Zellformen hervor, welchen jedoch nicht selten wieder Riesenzellen beigemengt sind.

Zu dem Formenkreis mit gedrungeneren Zellformen gehören die Kulturen No. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11 und 17. Von diesen haben sich im Laufe der Untersuchungen No. 3 und 4, welche gleicher Abstammung sind, als identisch erwiesen. Wenigstens sind die Differenzen so gering, daß sie auch nicht ausreichen, um damit verschiedene Varietäten zu begründen. Die Unterschiede bewegen sich im allgemeinen innerhalb der Grenzen, wie sie bei Parallelkulturen der gleichen Art vorkommen. Wir werden sie also später immer gleichzeitig beschreiben. Es handelt sich also nur um 7 unzweifelhaft verschiedene Arten, die wir in der Folge in einer Gruppe zusammenfassen werden. Der größere Teil der dieser zuzuzählenden Arten (No. 3, 4, 6 und 17) gehört zu den ausgesprochenen Vertretern der Gruppe Torula im Sinne von Hansen. Die Art No. 11 würde ebenfalls dieser Gruppe zuzurechnen sein, wenn sie nicht zuweilen Sproßverbände gestreckter Zellen erzeugen würde.

Außerdem stehen sich die Arten No. 7 und 8 in mancher Hinsicht näher.

Eine zweite Gruppe der untersuchten Sproßpilze umfaßt die Arten No. 1, 2, 9, 10, 15 und 16. Im allgemeinen handelt es sich bei diesem Formenkreis um Sproßpilze mit mehr oder weniger gestreckten, verzweigten oder unverzweigten Stammgliedern, die niemals echte Mycelien bilden und je nach den kulturellen Bedingungen bald in geringerer, bald in größerer Zahl, ja sogar fast ausschließlich gedrungenere Zellen vom Habitus der zur ersten Gruppe gehörigen Sproßpilze erzeugen. Neben Zellen, welche sich also nach Form und Größe und charakteristischen Merkmalen (sie sehen typischen Torula-Zellen völlig gleich) denjenigen der Sproßpilze der ersten Gruppe anreihen, finden sich keulen-, wurst- und mycelfadenförmige in allen Abstufungen. Zuweilen gleichen letztere, abgesehen von gewissen spezifischen Eigentümlichkeiten, den Kahmhautzellen zweiter Generation der untergärigen Bierhefen. Andere Arten entwickeln sehr dünne und zierliche Zellen.

Das Auftreten dieser langgestreckten Zellformen ist teilweise an bestimmte Kulturbedingungen gebunden, so zwar, daß der Sproßpilz innerhalb der Nährflüssigkeit ausschließlich oder vorherrschend mit gedrungeneren Zellformen wächst, während ähnlich wie in den Hautbildungen der Saccharomyceten erst an der Oberfläche gestreckte auftreten, und umgekehrt. Im allgemeinen kann wohl als Gesetz gelten, daß überall da, wo kugelförmige, den Zellen der typischen Torula-Arten gleiche oder ähnliche Zellen entstehen, diese ausschließlich oder vorherrschend an der Oberfläche, also in direkter Berührung mit der Luft entstehen.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Pseudovakuolen in Hefezellen.

Von **J. J. van Hest.**

Mit 4 Figuren.

Unter Pseudovakuolen verstehe man hier die größeren und kleineren, meist hellen, manchmal aber auch dunklen Flecken, welche man auf Abbildungen oder Photographieen von Hefezellen findet. Sie sind bei 300facher Vergrößerung mit dem Mikroskop noch deutlich sichtbar und besitzen einen Durchmesser von 2,5 bis 9—10 $\mu$. Ihre Anzahl in einer Hefezelle variiert zwischen 1 und 6, von denen manche selbst so groß sind, daß sie $^7/_8$ der ganzen Oberfläche einer Hefezelle einnehmen. Bei durchfallendem Licht zeigen sie sich unserem Auge als ein mehr oder minder durchscheinender Flecken, welcher von einem dunklen Rand begrenzt wird. Dieser Rand kann rund sein, ist jedoch stark Veränderungen unterworfen, wie wir weiter sehen werden. Diese Pseudovakuolen sind also dieselben Figuren, wie diejenigen, welche allgemein den Namen Vakuolen tragen.

Wenn man in der Litteratur über Vakuolen in Hefezellen nachschlägt, so findet man die Vakuolen meistenteils nur beiläufig oder in Verbindung mit anderen Eigenschaften der Hefezellen besprochen, aber die originelle Beschreibung, was Vakuolen in Hefezellen eigentlich sind und wie man dazu gekommen ist, diese Figuren Vakuolen zu nennen, habe ich nirgends finden können.

Pasteur (1) fand, daß diejenigen Hefezellen, welche während der Gärung mit Luft in Berührung gewesen waren, wenig Vakuolen enthielten.

In der Arbeit von Raum finden wir u. a. „Gerade die in ungünstigsten Ernährungsbedingungen lebenden Hefezellen bilden außerordentlich häufig Vakuolen". Granula und Vakuolen schließen sich jedoch gegenseitig nicht absolut aus. Innerhalb der Vakuolen finden sich keine Granula. Sprossung der Hefezelle ist auf vierfache Weise möglich: 1) Ohne Anteil von Granula und Vakuolen; 2) unter Mitwirkung der Granula allein; 3) unter alleiniger Teilnahme der Vakuolen; 4) unter Mithilfe sowohl der Granula als auch der Vakuolen. Von irgend welcher hervorragenden Bedeutung dürften jedoch nach dem Verf. die Vakuolen für den Vorgang der Sprossung nicht sein.

Hieronymus (3) fand in den Vakuolen zahlreiche, mehr oder weniger eckige, stark lichtbrechende Körnchen, in einigen Fällen reguläre Würfel. Behandelt man lebende Zellen mit sehr verdünntem Kalkwasser, so scheiden manche derselben einzelne Körnchen aus der fädigen Grundmasse in die Vakuole aus. Loefflers Methylenblau wird von den lebenden Hefenzellen aufgenommen und in kleinen Vakuolen sowohl zwischen den Fadenschlingen des Zentralkörpers, wie auch im übrigen Plasma aufgespeichert; der Farbstoff erscheint nur am Rande, wo er mit dem Protoplasma in Berührung kommt, blau, die Mitte der Vakuole erscheint dagegen rot, was auf die alkalische Natur des Protoplasmas und die Säure des Zellsaftes schließen läßt.

Dangeard zeigt, daß die Bierhefe (Saccharomyces cerevisiae) einen gut charakterisierten Zellkern besitzt, und gibt außerdem die Erscheinungen an, welche die Sprossung begleiten. Das Untersuchungsmaterial wurde mit absolutem Alkohol fixiert und mit Häma-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

toxylin gefärbt. Die Beobachtungen wurden mit dem Apochromat 2,0 mm von Zeiss angestellt. Die Hefezelle zeigt unter diesen Bedingungen unter der Zellmembran eine dicke Schicht von dichtem, homogenen Plasma, welche sich mit dem Reagens sehr stark färbt; diese Plasmaschicht umgrenzt nach innen einen großen Hohlraum. Der Zellkern ist in die Protoplasmaschicht selbst eingebettet. Im Ruhezustand besitzt derselbe Kugelform und wird von einer deutlich sichtbaren Membran begrenzt. In der Mitte des Zellkerns befindet sich ein großer, stark gefärbter, kugelförmiger Nucleolus.

Die Sprossung vollzieht sich in folgender Weise: Die Ausstülpung der Mutterzelle, welche eine Tochterzelle zur Entwicklung bringt, kann an einer Stelle auftreten, welche dem Zellkern diametral gegenüberliegt. Dieselbe ist ungefähr sphärisch und enthält, wie die Mutterzelle, eine Protoplasmaschicht, welche eine Vakuole umgibt.

Wager (5). In jungen Zellen ist der Nucleolus in engem Kontakt mit einer Vakuole, die ein körniges Chromatinnetzwerk enthält. In älteren Zellen kann die chromatinführende Vakuole verschwinden; ihren Platz nehmen dann ein körniges Netzwerk oder aber Chromatinkörnchen ein, die durch das Protoplasma zerstreut oder rund um den Nucleolus gruppiert sein können.

In jungen Zellen finden sich oft zahlreiche Chromatinvakuolen. Später scheinen sie zusammenzufließen. Während der Sprossung zeigt der Kernapparat keine Kernfiguren bei der Teilung. Letztere muß vielmehr als eine direkte Spaltung in zwei gleiche oder nahezu gleiche Teile betrachtet werden, begleitet von einer Teilung der Chromatinvakuole, des Netzwerkes oder der Körnchen.

Guilliermond (6). Der Zellkern liegt in der Nähe von mehreren kleinen oder einer großen Vakuole, welche einige rote Granula enthält (Bütschli). Die Teilung des Kerns geht wie bei der Mehrzahl der niederen Pilze vor sich, welche gewisse Autoren als eine Zwischenart der Mitose und der Amitose betrachten. Er teilt sich zuerst in zwei Teile, welche zunächst im Querschnitt die Form von Halbkreisen besitzen und manchmal durch eine dunklere Zone vereinigt, sowie von einer Scheide farblosen Nukleoplasmas umgeben sind. Hierauf teilt sich das Nukleoplasma und es entstehen zwei deutlich unterscheidbare Kerne. Von den beiden Zellen, welche sich zu einem Ascus vereinigen sollen, besitzt jede eine große Vakuole und einen Kern, welcher im allgemeinen nahe bei der Trennungswand oder an der Stelle der kleinen Ausstülpung, durch welche sich die Verschmelzung vollzieht, liegt. Sobald die Wand verschwindet, verschmelzen die beiden Kerne; man findet eine Reihe von Zwischenstadien, in welchen einerseits die beiden Zellen durch einen in der Mitte geschlossenen Kanal vereinigt sind und in welchen die Kerne in der Nähe der Trennungswand liegen, andererseits die Trennungswand aufgelöst und nur ein einziger Kern vorhanden ist. Der aus der Verschmelzung der beiden ursprünglich hervorgegangene Kern teilt sich alsbald von neuem in zwei, welche ihrerseits sich sofort teilen und sich an verschiedenen Stellen der Zelle zerstreuen, um dort Sporen zu bilden. Diese Teilung vollzieht sich in derselben Weise, wie in den vegetativen Zellen. Während dieser Zeit hat sich an dem Protoplasma eine gewisse Veränderung vollzogen. Die beiden, von den ursprünglichen Zellen herrührenden Vakuolen bleiben an den beiden Polen der Ascus-bildenden Zelle und lassen zwischen sich sehr dichtes Plasma erkennen, in welchem sehr bald kleine Vakuolen entstehen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Klöcker (7). Das Protoplasma der Hefezellen bildet nach Jansen und Leblanc ein feines Netzwerk; während der Gärung wird dessen Aussehen geändert: es treten Vakuolen auf, das Protoplasma wird körnig, auch Fett- und Oeltröpfchen können sich bilden. Unter Vakuolen versteht man Hohlräume in den Zellen, die mit Zellsaft erfüllt sind. Gewöhnlich sieht man in den Vakuolen ein stark lichtbrechendes Körperchen, das Vakuolenkörnchen, welches in stetiger Bewegung ist. Die Anzahl dieser Vakuolenkörnchen ist gewöhnlich eines bis drei, nur ausnahmsweise finden sich mehrere oder gar keine. Nach Küster sind diese Körperchen Stoffwechselprodukte, welche aus dem Plasma stammen; sie bilden eine plastisch-formbare, halbflüssige Masse. Mit einer dünnen, wässerigen Lösung von Neutralrot (1 : 5000 oder 1 : 10000) färben sie sich bei geeignetem Material schon nach wenigen Minuten intensiv rot, während alle übrigen Teile der Zelle farblos bleiben.

Lafar (8). Während bei jungen Zellen das Plasma kontinuierlich das ganze Zellinnere ausfüllt, lockert sich mit zunehmendem Alter das Gefüge der ursprünglich homogenen Masse. Sie wird durch Vakuolen zerklüftet und scheidet allerlei Inhaltsstoffe aus. Die Vakuolen können von ganz verschiedener Größe sein und sich in ganz verschiedener Anzahl in den einzelnen Zellen befinden. Bei den Saprolegniaceen enthalten die länglichen Zellen meist eine große, zentrale Vakuole, so daß das Plasma zu einem, die Innenseite der Membran bekleidenden Schlauch wird. Die Hefenzellen besitzen außer einer oder zwei größeren Vakuolen meist noch eine Anzahl kleinerer. Bisweilen finden sich viele kleine Vakuolen im Plasma vor, so daß es schaumig erscheint. In den reifen Sporen fehlen Vakuolen meistens, während sie bei der Auskeimung der Sporen, wenn reichliche Wasseraufnahme eintritt, sofort zahlreich auftreten. Die Vakuolen sind mit Zellsaft erfüllt.

Lafar. 7. Lieferung. p. 65. Bearbeitet von H. Will. Die lichteren, durch eine helle Linie scharf begrenzten Räume des Zellinhaltes werden als Vakuolen oder auch als Safträume bezeichnet. Sie sind von einer wässerigen Flüssigkeit erfüllt, über deren Zusammensetzung nichts bekannt ist. Bei Gegenwart gewisser Magnesiumverbindungen in künstlichen Nährlösungen färbt sich der Vakuoleninhalt, wie R. Schander beobachtet hat, rot. Das Zellplasma grenzt sich ebenso wie gegen die Zellhaut auch gegen die Vakuolen durch eine immer dichter werdende Schicht, welche als Vakuolenhaut bezeichnet wird, ab. Es ist dies die helle Linie, welche man in der Umgebung der Vakuolen beobachtet. Die großen Vakuolen zeigen häufig eine unregelmäßige Umgrenzung und sind scheinbar von dichteren Strängen durchzogen. In diesem Falle ist die Verschmelzung mehrerer Vakuolen zu einer einzigen eingeleitet, wobei zunächst der feinschaumige Teil des Cytoplasmas zurücktritt, wodurch sich die Vakuolenhäute mehr und mehr einander nähern und dann die Stränge darstellen, welche scheinbar eine größere Vakuole durchziehen. Bei der vegetativenVermehrung nimmt in den Mutterzellen in demselben Maße, als die angehäuften Reservestoffe verbraucht werden, die Zahl und Größe zu. Auch in den ruhenden Zellen ist dies der Fall, wenn sie sich in alten Kulturen bei mangelnder Zufuhr von frischer Nahrung allmählich erschöpfen. Die Vakuolen nehmen an Größe zu, und oft erfüllt eine einzige, bis auf einen dünnen, wandständigen Plasmabelag, das Zellinnere. Sind mehrere vorhanden, so erscheint die Zelle durch die sie trennenden Vakuolenhäute wie von Querwänden durchzogen. Obergärige Hefen sind meist reicher vakuolisiert als untergärige.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei regelmäßiger Form und Lagerung der Vakuolen, sowie gleichmäßiger Größe werden dieselben von Anfängern häufig mit Sporen verwechselt. Da jedoch die Sporen durch Teilung des verdichteten Plasmas entstehen, mag deren Lichtbrechungsvermögen größer sein als dasjenige ihrer Umgebung. Im Gegensatz hierzu ist jedoch das Lichtbrechungsvermögen der Vakuolen geringer als dasjenige des Cytoplasmas, welches sie umgibt. (Fortsetzung folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber den Einfluss der schwefligen Säure auf Entwickelung und Haltbarkeit der Obstweine.

Von **H. Müller-Thurgau.**

Im Anschluß an meine früheren Veröffentlichungen über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Weingärung [1]) seien im nachfolgenden die Resultate von Versuchen mitgeteilt, die entscheiden sollten, ob und inwieweit es möglich ist, durch Einbrennen des noch unvergorenen Obstsaftes eine reinere Gärung und ein haltbareres Getränk zu erzielen. Es handelt sich dabei namentlich um säurearme Birnsäfte, wie sie in manchen Jahren von überreifen oder teigen Teilersbirnen und anderen säurearmen Birnen, sowie von sogenannten Süßäpfeln gewonnen werden. Erfahrungsgemäß sind solche Getränke wenig haltbar und verfallen schon während der Gärung oder doch bald nachher dem Milchsäurestich, selbst bei richtiger Kellerbehandlung. Wie wir schon früher zeigten, stellen sich in diesen an Säure und Gerbstoff armen Mosten frühzeitig Milchsäurebakterien ein, die jene schädlichen Veränderungen verursachen. Diese Organismen haben wir seit Jahren einem eingehenden Studium unterworfen, werden jedoch an anderer Stelle im Zusammenhang darüber berichten. Hier soll zunächst nur von den Mitteln die Rede sein, durch die sie bei der Gärung oder nachher getötet oder doch in der Entwickelung gehemmt werden können. Schon der Umstand, daß sie in säure- und gerbstoffreichen Obstweinen nicht in gleichem Grade nachteilig wirken, weist darauf hin, daß man durch Beimischung von säure- und gerbstoffreichem Obst oder Obstsaft den nachteiligen Veränderungen einigermaßen vorbeugen könnte; allein solche stehen in der Zeit, da jene Früchte verarbeitet werden, in der Regel noch nicht zur Verfügung. Die Vorschrift, man solle die Früchte nicht überreif werden lassen, kann in manchen Jahrgängen, wo große Mengen der betreffenden Früchte rasch und fast gleichzeitig reif werden, nur schwer oder gar nicht befolgt werden. Der direkte Zusatz von Säure und Gerbstoff kann aus anderen Gründen nicht empfohlen werden. So führten unsere Beobachtungen, daß gewisse Pilze empfindlich gegen schwefliche Säure sind, dazu, Versuche anzustellen, ob es möglich ist, durch das Einbrennen vor der Gärung diese Organismen hintanzuhalten und dadurch jene ungünstigen Veränderungeu zu verhindern.

Schon im Jahre 1900 haben einige unserer neueren Versuche deutlich einen günstigen Einfluß des Einbrennens erkennen lassen. Es wurde dabei in der Weise verfahren, daß man den betreffenden Obstsaft frisch von der Presse, möglichst gleichmäßig verteilt, in Flaschen zu 10 l füllte.

---

1) V. Jahresbericht der Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil für 1894/95. p. 98; VII. Bericht für 1896/97. p. 56; IX. Bericht für 1898/99. p. 73.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Flaschen wurden vor und während des Füllens ungleich stark eingebrannt und dann mit Gärverschlüssen versehen. Aus jeder Flasche wurden, um den Gärverlauf durch tägliche Wägung bestimmen zu können, 2 Flaschen à 400 ccm abgefüllt. Ferner entnahm man den großen Gärflaschen von Zeit zu Zeit nach sorgfältigem Mischen Proben zur Herstellung von Plattenkulturen, um die Entwickelung der Pilzflora festzustellen. Es können hier nicht alle in diesem und den folgenden Jahren bis 1904 ausgeführten diesbezüglichen Versuche im einzelnen mitgeteilt werden, es soll das an anderer Stelle geschehen. Ueberdies stimmen die Resultate derart überein, daß einige Beispiele genügen, den Einfluß des Einbrennens erkennen zu lassen. Ein Wasserbirnenmost wurde in einer Gärfläche nicht eingebrannt und ein zweiter so, daß er sofort nach dem Einbrennen 104 mg gesamte schweflige Säure, und ein dritter derart, daß er 151 mg pro Liter enthielt. Die Bestimmung der schwefligen Säure fand bald nach dem Einbrennen statt. Die Gärung begann am 23. Oktober; am 15. Dezember zeigten die Weine folgende Zusammensetzung:

Tabelle 1.

| | Alkohol Gew. % | Zucker ‰ | Gesamtsäure als Apfelsäure ‰ | Flüchtige Säure als Essigsäure ‰ | Flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Nicht flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Extrakt ‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ohne $SO_2$ | 4,5 | 0,35 | 3,49 | 1,51 | 1,68 | 1,81 | 25,1 |
| 104 mg $SO_2$ | 5,0 | 0,71 | 4,44 | 0,43 | 0,49 | 3,95 | 26,5 |
| 151 mg $SO_2$ | 4,9 | 0,82 | 4,02 | 0,38 | 0,42 | 3,60 | 27,2 |

Da man den Gehalt an flüchtiger Säure und den Grad, bis zu dem die nicht flüchtige Säure zersetzt wurde, als Maßstab für das Verderben des Getränkes annehmen kann, sowohl hinsichtlich des Geschmackes als auch der Bekömmlichkeit, so läßt sich aus der Zusammensetzung erkennen, daß die Weine aus den eingebrannten Säften gesunder geblieben sind, als die aus dem nicht eingebrannten Most. Dagegen ist ein Unterschied zwischen dem schwach und stark eingebrannten nicht zu erkennen, woraus zu schließen ist, daß 104 mg pro Liter unter den vorliegenden Verhältnissen jedenfalls genügend war. Den Gärverlauf vermochten selbst 151 mg nur anfangs stärker zu verzögern. Die drei Obstweine beendigten ihre Gärung beinahe zu gleicher Zeit. Es betrug die Menge der von Anfang an aus den Versuchsgefäßen abgegebenen Kohlensäure per Liter in Gramm:

| | nach 3 Tagen | 5 Tagen | 10 Tagen | 20 Tagen | 27 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|
| ohne $SO_2$ | 3,1 | 12,0 | 28,8 | 40,7 | 41,7 |
| bei 104 mg $SO_2$ | 0,3 | 7,2 | 23,8 | 38,1 | 41,2 |
| „ 151 „ $SO_2$ | 0,2 | 5,3 | 21,3 | 36,7 | 41,3 |

Wieder andere interessante Beziehungen läßt folgender nach gleicher Methode angestellte Versuch mit Teilersbirnensaft erkennen, der am 2. Oktober begonnen wurde, während die vergorenen Weine am 7. Januar zur Untersuchung kamen. Diese ergab:

(Siehe Tabelle 2 p. 13.)

Wie im vorigen Versuche, wurde bei Gegenwart der schwefligen Säure weniger flüchtige Säure gebildet. Dagegen zeigt hier die nichtflüchtige Säure ein abweichendes Verhalten. Um dies zu verstehen, ist

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 2.

| | Alkohol Gew. % | Zucker ‰ | Gesamtsäure als Apfelsäure ‰ | Flüchtige Säure als Essigsäure ‰ | Flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Nicht flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Extrakt ‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Unvergor. Saft | — | 101,1 | 2,40 | 0,33 | 0,37 | 2,03 | 149,72 |
| Ohne $SO_2$ | 4,8 | 0,44 | 9,99 | 4,39 | 4,89 | 5,10 | 34,93 |
| Mit 77 mg $SO_2$ | 5,3 | 0,93 | 5,82 | 2,26 | 2,52 | 3,30 | 35,58 |
| Mit 105 mg $SO_2$ | 5,5 | 0,92 | 4,93 | 1,61 | 1,79 | 3,14 | 32,13 |

aber zu berücksichtigen, daß in diesen Obstweinen eine auffallend starke Neubildung von nichtflüchtiger Säure stattfand. Es ist nun ganz gut möglich, daß auch dieser Vorgang durch die schweflige Säure gehemmt wurde und daß der geringe Gehalt an nichtflüchtiger Säure in diesen eingebrannten Obstweinen hierauf zurückzuführen ist und nicht etwa auf eine weniger intensive Zerlegung durch die Bakterien. Auf die geradezu auffällig starke Neubildung von nichtflüchtiger Säure in diesem Teilersbirnensaft werde ich bei Besprechung von Gärversuchen mit Reinhefe in Obstweinen zurückkommen. Zwischen dem schwächer und dem stärker eingebrannten Weine ist wiederum ein erheblicher Unterschied nicht vorhanden. Der Gärvorgang wurde durch die schweflige Säure nicht gehemmt, sondern im Gegenteil noch etwas gefördert, die Gesamtmenge der von Anfang an per Liter abgegebenen Kohlensäure in Gramm betrug nämlich:

| | nach 2 Tagen | 5 Tagen | 10 Tagen | 20 Tagen | 30 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|
| ohne $SO_2$ | 4,9 | 12,2 | 22,8 | 42,5 | 45,9 |
| mit 77 mg $SO_2$ | 4,6 | 13,7 | 24,8 | 39,1 | 45,2 |
| „ 105 mg $SO_2$ | 4,3 | 13,8 | 25,0 | 40,1 | 46,7 |

Die hier sich zeigende auffallende Erscheinung, daß eine so beträchtliche Menge an schwefliger Säure nicht hemmend, sondern sogar noch etwas fördernd auf die Gärung einwirkt, findet ihre Erklärung in dem Befund der bakteriologischen Untersuchung. Einige Stunden nach dem Einbrennen wurden den verschieden behandelten Mosten Proben entnommen und damit Plattenkulturen in Mostgelatine angelegt. Ebenso verfuhr man 1, 2 und 3 Tage später. Der Erwartung entsprechend, erwies sich der von einem benachbarten Obstbauern bezogene, wenig sorgfältig hergestellte und vor dem Versuch einige Zeit in offenem Gefäß stehen gebliebene Birnsaft als sehr reich an Organismen. Bei der Zählung der Kolonieen wurden die Weinhefen, elliptische und pastoriane zusammen gezählt, sodann die wesentlich kleineren Kolonieen, die zum weitaus größten Teil aus Bakterien, zum kleineren Teil aus Apiculatus-Hefe bestanden, ferner eine in den Birnweinen häufig vorkommende „rote Hefe“, die charakteristisch geformten Dematium-Kolonieen und endlich die Schimmelpilzrasen. Die beiden letzteren traten in den am 2. und 3. Tage angelegten Kulturen nicht mehr auf. Das Ergebnis der Zählung der in einem Kubikcentimeter Most enthaltenen Pilze war folgendes:

(Siehe Tabelle 3 p. 13.)

Die starke Zunahme der nachteilig wirkenden Organismen in den ersten Tagen hat sie befähigt, das Wachstum der Hefen, sowie den Gärungsvorgang beträchtlich zu hemmen. In den eingebrannten Mosten

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 3.

| Zeit | Art der Pilze | ohne $SO_2$ | mit 77 mg $SO_2$ | mit 105 mg $SO_2$ |
|---|---|---|---|---|
| 1. Tag | Sacch. ellips. u. pastor. | 1 122 000 | 816 000 | 755 000 |
| | Bakterien (+ S. apic.) | 10 303 000 | 7 059 000 | 5 937 000 |
| | Rote Hefe | 194 000 | 143 000 | 173 000 |
| | Dematium | 20 000 | 10 000 | 20 000 |
| | Schimmelpilze | 31 000 | — | — |
| 2. Tag | Sacch. ellips. u. pastor. | 7 518 000 | 8 640 000 | 11 221 000 |
| | Bakterien (+ S. apic.) | 108 620 000 | 69 234 000 | 12 445 000 |
| | Rote Hefe | 224 000 | 337 000 | 449 001 |
| 3. Tag | Sacch. ellips. u. pastor. | 11 333 000 | 18 290 000 | 24 462 000 |
| | Bakterien (+ S. apic.) | 152 831 000 | 83 036 000 | 28 726 000 |
| | Rote Hefe | 224 000 | 112 000 | — |

wurde dagegen durch die schweflige Säure die Vermehrung der Bakterien etc. stark beeinträchtigt. Dadurch gestalteten sich die Verhältnisse für die Weinhefen günstiger, so daß sich diese trotz der schwefligen Säure rascher vermehrten als in dem nicht eingebrannten Most.

Von den übrigen Versuchen möge noch einer mit Teilersbirnensaft vom Herbst 1902 hier angeführt sein. Es wurde dabei in gleicher Weise wie bei dem in erster Linie beschriebenen vorgegangen, die verschieden behandelten Moste wurden am 3. Oktober zur Gärung angesetzt. Der schwächer eingebrannte enthielt sofort nach dem Einbrennen 46 mg schweflige Säure pro Liter, der stark eingebrannte 122 mg. Eine weitere Menge des gleichen Mostes wurde ebenfalls stark eingebrannt (102 mg $SO_2$ pro Liter) und dann sofort eine reingezüchtete kräftige Obstweinhefe (Wädensweil 4) zugesetzt. Wider Erwarten zeigte sich im Gärverlauf kein erheblicher Unterschied zwischen den verschieden behandelten Mosten, so betrug z. B. am 10. Tage die bis dahin abgegebene Kohlensäuremenge im Mittel von je 2 Proben pro Liter beim nicht eingebrannten Most 34,4 g, beim schwach eingebrannten 34,3 g, beim stark eingebrannten 34,4 g, beim eingebrannten und mit Reinhefe versehenen 35,9 g. Die schweflige Säure ist also ohne Einfluß auf die Hefetätigkeit geblieben, was wohl durch den schon anfänglich großen Gehalt an tätigen Hefezellen zurückzuführen ist. Demselben Umstande ist wohl auch die geringe Steigerung der Gärung durch die zugesetzte Reinhefe zuzuschreiben. Ungeachtet dieses etwas überraschenden Verhaltens zeigte die vom 9.—15. Januar 1903 vorgenommene chemische Untersuchung doch einen Einfluß auf die Beschaffenheit des vergorenen Birnenweines. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 4.

| | Alkohol Gew. % | Zucker ‰ | Gesamtsäure als Apfelsäure ‰ | Flüchtige Säure als Essigsäure ‰ | Flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Nichtflüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Extrakt ‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Unvergorener Saft | — | 97,16 | 3,91 | 0,37 | 0,41 | 3,50 | 143,8 |
| Ohne $SO_2$ | 5,50 | 0,38 | 6,87 | 2,92 | 3,26 | 3,61 | 24.6 |
| Mit 46 mg $SO_2$ | 5,53 | 0,85 | 3,59 | 1,39 | 1,55 | 2,04 | 29,5 |
| Mit 122 mg $SO_2$ | 5,64 | 0,94 | 3,86 | 1,63 | 1,82 | 2,04 | 29,5 |
| Mit 102 mg $SO_2$ und Reinhefezusatz | 5,70 | 0,87 | 3,84 | 1,58 | 1,77 | 2,07 | 28,7 |

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trotz des übereinstimmenden Gärverlaufes der verschiedenen Moste war ihre Zusammensetzung nach Abfluß der Gärung also doch verschieden; die schweflige Säure hat wiederum ihren günstigen Einfluß ausgeübt, und zwar die geringere Menge in ziemlich gleichem Maße, wie die bedeutend größere. Der Befund der mikroskopischen Untersuchung des Trubs gibt uns die gewünschte Auskunft. Der Wein aus dem nicht eingebrannten Saft enthielt neben elliptischen Hefeformen viele pastoriane und viel Apiculatus-Hefe, sowie eine enorme Menge von Milchsäurebakterien, während sämtliche Weine aus den eingebrannten Mosten eine ungefähr gleiche Hefezusammensetzung, jedoch bedeutend weniger Milchsäurebakterien aufwiesen.

Im Alkoholgehalt läßt sich nur ein geringer Unterschied bemerken, dieser allerdings zu Gunsten derjenigen Proben, in denen die reinste Gärung vorausgesetzt werden konnte. Die Zuckerreste sind unbedeutend, aber doch in dem nicht eingebrannten Wein noch merklich kleiner als in den übrigen Weinen. Es darf angenommen werden, daß dies den Milchsäurebakterien zuzuschreiben ist, die sich intensiver noch als die Hefen des letzten Zuckers bemächtigen. Wiederum zeigt der Wein aus nicht eingebranntem Most den höchsten Säuregehalt, was teils der beträchtlichen Zunahme der flüchtigen Säure zuzuschreiben ist, teils aber auch einem höheren Gehalt an nichtflüchtiger Säure. Es stimmt darin das Ergebnis dieses Versuches mit demjenigen des vorhergehenden überein. Aus dem Verhalten des Extraktgehaltes darf wohl geschlossen werden, daß die Milchsäurebakterien als Material zu ihrem Aufbau, sowie als Energiequelle und zu Gärungszwecken noch andere Extraktstoffe, als nur Zucker und Säuren verwenden.

Wie schon aus den bisher mitgeteilten Versuchsresultaten hervorgeht, können Obstweine, die für das Wachstum der erwähnten Milchsäurebakterien disponiert sind, vor deren schädlicher, schon während oder unmittelbar nach der Gärung beginnenden Einwirkung, geschützt werden, indem man die Moste sofort nach dem Abpressen einbrennt. Die schweflige Säure hindert oder hemmt doch deren Entwickelung und Wirksamkeit, ohne, wenn nicht im Uebermaß vorhanden, die Gärung zu beeinträchtigen. Unterstützt wird diese Wirkung noch durch einen frühzeitigen Abzug von der Hefe, wodurch den Bakterien ein günstiger Nährboden entzogen wird.

Daß selbst bei sehr starkem Einbrennen nach verhältnismäßig kurzer Zeit nur noch wenig freie schweflige Säure im Obstweine vorhanden ist, ergab sich bei einem weiteren Versuche vom 19. September 1904 mit einem Teilersbirnensaft. Derselbe wurde in gleicher Weise, wie beschrieben, in großen Gärflaschen eingebrannt und besaß:

| | am 19. September sofort nach dem Einbrennen mg pro Liter | am 28. Oktober nach Abschluß der Gärung gesamte $SO_2$ mg pro Liter | freie $SO_2$ mg pro Liter |
|---|---|---|---|
| ziemlich stark eingebrannt | 122 | 105 | 6 |
| stark eingebrannt | 200 | 191 | 6 |
| sehr stark eingebrannt | 295 | 266 | 6 |

Bei diesem Versuche wurde neben den übrigen Bestandteilen auch die Milchsäure (nach Möslinger) bestimmt, und es mag daher das Ergebnis des Versuches zur Vervollständigung des Gesagten noch angeführt werden. Die vergorenen Obstweine blieben bis 26. Januar auf

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Hefe bei 15° stehen und wurden dann untersucht. Die Zusammensetzung war folgende:

Tabelle 5.

| | Alkohol Gew. % | Zucker ‰ | Gesamtsäure als Apfelsäure ‰ | Flüchtige Säure als Essigsäure ‰ | Flüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Nichtflüchtige Säure als Apfelsäure ‰ | Milchsäure ‰ | Extrakt ‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Unvergorener Saft | — | 143,4 | 3,97 | 0,63 | 0,71 | 3,26 | — | — |
| Ohne $SO_2$ | 7,19 | 0,468 | 8,74 | 3,66 | 4,09 | 4,65 | 5,34 | 42,06 |
| Mit 122 mg $SO_2$ | 7,66 | 1,77 | 6,63 | 1,08 | 1,20 | 5,42 | 2,00 | 47,98 |
| „ 200 „ „ | 7,53 | 1,81 | 6,57 | 1,00 | 1,17 | 5,39 | 1,80 | 48,50 |
| „ 295 „ „ | 7,53 | 1,77 | 6,03 | 0,97 | 1,09 | 4,94 | 1,51 | 47,50 |

Die Gärung verlief in diesen verschieden stark eingebrannten Obstsäften, wie zu erwarten stand, ungleich schnell. Aehnlich wie im vorhergehend beschriebenen Versuche wurde der Gärverlauf durch 122 mg schweflige Säure nicht wesentlich gehemmt, so daß die Menge der in den ersten 10 Tagen abgegebenen Kohlensäure betrug: bei dem nicht eingebrannten Moste 19,6 g pro Liter, bei dem schwach eingebrannten 18,1 g. Bedeutender war dagegen die Gärungshemmung bei den stärker eingebrannten Mosten. Bei dem 200 mg schweflige Säure enthaltenden betrug die Kohlensäureabgabe in dem gleichen Zeitraume 5,6 g pro Liter, während bei dem mit 295 mg schweflige Säure die Gärung erst jetzt begann. Den weiteren Gärverlauf mögen folgende herausgegriffenen Daten andeuten. Der gesamte Kohlensäureverlust in Gramm betrug pro Liter:

| Most | am 10. | 15. | 30. | 40. | 50. Tage |
|---|---|---|---|---|---|
| nicht eingebrannt | 19,6 | 31,5 | 54,9 | 63,7 | 66,6 |
| mit 122 mg schwefliger Säure | 18,1 | 30,3 | 54,6 | 64,0 | 66,7 |
| „ 200 „ „ „ | 5,0 | 16,6 | 46,9 | 59,7 | 65,1 |
| „ 295 „ „ „ | 0,2 | 2,3 | 27,9 | 44,8 | 54,3 |

Der stark eingebrannte Most, der es überhaupt nie zu einer kräftigen Gärung brachte, bedurfte zur vollständigen Vergärung noch mehrerer weiterer Wochen.

Die mikroskopische Untersuchung der Trube ergab im nicht eingebrannten Obstwein das Vorhandensein von elliptischen und pastorianen Hefezellen in ungefähr gleich großer Zahl, sowie vereinzelte Apiculatus-Hefen und eine Unmenge von Stäbchenbakterien (Milchsäurebakterien). In den Obstweinen mit anfänglich 122 und 200 mg schweflige Säure war das Verhältnis zwischen elliptischen und pastorianen Hefezellformen das gleiche, dagegen fehlten die Apiculatus-Zellen und die Milchsäurebakterien. Letzteres war auch der Fall bei dem Trub des stärkst eingebrannten Weines, in welchem aber die elliptischen Hefeformen gegenüber den pastorianen vorherrschten. Hiermit in Uebereinstimmung zeigte bei der Kostprobe der nichteingebrannte Obstwein einen unreinen Geruch und Geschmack und ließ Milchsäure- und Essigstich erkennen. Der schwächer eingebrannte schmeckte rein, während in den beiden stärker eingebrannten ein deutlicher Böcksergeschmack bemerkbar war.

Mit diesen Befunden der mikroskopischen Untersuchung der Trube und der Kostprobe stehen die in Tabelle 5 zusammengestellten Ergebnisse der chemischen Analyse gut im Einklang. Sie stimmen auch über-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein mit den Resultaten der drei vorhergehenden Versuche und lassen sich mit diesen folgenderweise zusammenfassen:

1) Durch das Einbrennen des frisch abgepreßten Obstsaftes läßt sich die Beschaffenheit der Pilzflora verbessern und eine reinere Gärung erzielen. Besonders ist es möglich, das schädliche Auftreten bezw. die Vermehrung der Apiculatus-Hefen, sowie der den Milchsäurestich verursachenden Stäbchenbakterien zu verhindern oder doch zurückzuhalten. (Näheres über diese Bakterien wird an anderer Stelle mitgeteilt.)

2) Dieser günstige Einfluß der schwefligen Säure kommt um so besser zur Geltung, je bälder sie nach dem Pressen des Obstes dem Safte zugefügt wird.

3) In den eingebrannten Obstweinen bleibt nach abgeschlossener Gärung ein größerer Zuckerrest übrig als in nichteingebrannten. Es ist dies nicht etwa darauf zurückzuführen, daß infolge der Einwirkung der $SO_2$ weniger Alkohol entstanden wäre; im Gegenteil enthalten sie meist auch mehr Alkohol, wie besonders der letzterwähnte Versuch (Tabelle 5) zeigt. Wie aus anderen Versuchen hervorgeht, ist der Zucker für die hier in Betracht kommenden Milchsäurebakterien ein geeignetes Nährmaterial, so daß hierdurch die Mehrausbeute an Alkohol in den eingebrannten Weinen erklärt wird. Daß nach der Gärung bei Anwesenheit von $SO_2$ meist ein größerer Zuckerrest verbleibt, ist vielleicht auf deren gärungshemmende Einwirkung zurückzuführen, vielleicht aber auch darauf, daß hier noch andere Kupferverbindungen reduzierende Substanzen sich vorfinden, die als Zucker bestimmt werden, jedoch für Hefe nicht vergärungsfähig sind, wohl aber von den Milchsäurebakterien angegriffen werden können und daher in dem nichteingebrannten Weine zersetzt wurden.

4) Der Gehalt an nichtflüchtiger Säure wird, wie andere unserer Versuche zeigen, in solchen Mosten bei Gegenwart von Hefe allein in der Regel mehr oder weniger erhöht, durch die Einwirkung der Milchsäurebakterien allein stets vermindert. Das Ergebnis der vorstehenden Versuche ist also eine zusammengesetzte Erscheinung. Die beiden sich entgegenwirkenden Vorgänge werden zudem durch die Anwesenheit von schwefliger Säure beeinflußt, und zwar in verschiedener Weise. Im letzten Versuche besaß der unvergorene Saft 3,27 ‰ nichtflüchtige Säure. Bei der Gärung, also durch die Einwirkung der Hefe, nahm diese Säure zu, und zwar voraussichtlich am meisten in dem nichteingebrannten Safte, bei dem eingebrannten um so weniger, je mehr schweflige Säure vorhanden war. In diesen letzteren verblieb die nichtflüchtige Säure, während im nichteingebrannten ein Teil durch die Bakterien zersetzt wurde. Aehnlich liegen die Verhältnisse im ersten Versuch (Tabelle 1), wo der unvergorene Saft 2,4 ‰ nichtflüchtige Säure enthielt. Durch Einwirkung der Hefe wurde im stark eingebrannten Saft der Gehalt an solcher Säure auf 3,6, in schwächer eingebranntem auf 3,95, in nichteingebranntem vielleicht auf 4,5 oder mehr pro Mille erhöht, in letzterem aber durch die Bakterien wieder auf 1,81 vermindert. Weniger durchsichtig ist das Ergebnis der Versuche 2 und 3, was dadurch begreiflich wird, daß, wie die Untersuchung des Trubes ergab, in den eingebrannten Mosten die Bakterien nicht vollkommen getötet waren und einige Wochen nach abgeschlossener Gärung wieder überhand nehmen konnten. Damit stimmt denn auch der hohe Gehalt an flüchtiger Säure überein.

5) In den eingebrannten Säften bildete sich bedeutend weniger flüchtige Säure als in den nicht eingebrannten, besonders dann, wenn es



Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

gelang, die Wirkung der Bakterien vollständig auszuschließen, wie bei Versuch 1.

6) Der Gehalt an Milchsäure, der nur im letzten der angeführten Versuche bestimmt wurde, zeigt ebenfalls einen Zusammenhang mit der Anwesenheit von schwefliger Säure, indem der nicht eingebrannte Saft ca. 3mal soviel enthielt wie die eingebrannten. Daß die hier vorkommenden Bakterien Milchsäure erzeugen, haben wir durch Versuche in Reinkulturen nachgewiesen, und es kann daher das Untersuchungsergebnis nicht überraschen. Näheres über diese Milchsäurebildung soll an anderer Stelle mitgeteilt werden.

7) Die freie schweflige Säure verschwindet nach dem Einbrennen rasch, so daß sich, wie bereits erwähnt, in den vergorenen Weinen nur wenig vorfindet. Dagegen hat der Gehalt an gesamter schwefliger Säure nicht wesentlich abgenommen, und es ist daraus zu schließen, daß von der schwefligen Säure nur wenig mit der bei der Gärung entstehenden Kohlensäure entwich, daß auch, wie leicht begreiflich, eine Oxydation zu Schwefelsäure nicht in erheblichem Maße stattfand, sondern daß die schweflige Säure noch vorhanden war, jedoch gebunden, und zwar voraussichtlich als aldehyd-schweflige Säure. Da in den Obstweinen aus eingebrannten Mosten nur wenige Milligramm freie schweflige Säure zurückbleiben, die gebundene schweflige Säure aber nicht als gesundheitsschädlich betrachtet wird und bis zu 200 mg gesamte schweflige Säure geduldet werden, so ist die hier dargelegte Methode, die Bakterien zu bekämpfen, vom gesundheitlichen Standpunkte aus nicht anzufechten. (Wo dies gesetzlich erlaubt ist, kann die schweflige Säure dem frisch abgepreßten Moste statt durch Einbrennen mit Schwefel auch durch Zugabe einer abgewogenen Menge von Kalium metasulfid beigefügt werden.) Dennoch möchten wir das Einbrennen nur da angewendet wissen, wo es notwendig ist, nämlich bei Mosten, bei deren Gärung Bakterien (sowie Apiculatus-Hefen und Schimmelpilze) voraussichtlich stark überhandnehmen und das Getränk verderben würden, wie z. B. bei solchen aus säurearmen Aepfeln oder Birnen, namentlich aus überreifen und teigen Birnen, ferner bei Mosten aus Trauben, die entsprechend der Sorte oder infolge zu weit vorgeschrittener Reife arm an Säure sind und endlich bei Mosten aus stark faulen Trauben, besonders wenn in all diesen Fällen die Gärung zudem noch bei hoher Temperatur stattfindet.

Um zu prüfen, ob ähnliche Resultate auch unter den für die Praxis maßgebenden Verhältnissen sich ergeben, wurden in den Berichtsjahren auch Versuche in Fässern angestellt. In den Jahren 1902 und 1903, wo frisch geerntete, in der Reife nicht allzu weit fortgeschrittene Teilersbirnen zur Verwendung kamen, zeigten die eingebrannten und nichteingebrannten Obstweine sowohl im Gärverlauf als auch in der Beschaffenheit keine merkliche Verschiedenheit. Die Trube waren in Uebereinstimmung hiermit auffallend arm an Bakterien, auch bei den nichteingebrannten. Hier konnte also die schweflige Säure einen günstigen Einfluß nicht ausüben. Anders bei einem Versuche des Jahres 1904 mit kernteigen und ganz teigen Teilersbirnen, dessen Ergebnis im nachfolgenden noch angeführt werden möge. Am 16. September wurden die Früchte gemostet und der Saft gleichmäßig in drei ausgedämpfte Fässer à 600 Liter gefüllt. Von diesen war eines nicht, das zweite mit 4 Schwefelschnitten, das dritte mit 6 Schwefelschnitten à 12 g eingebrannt. Die

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

am gleichen Tage ausgeführte Bestimmung der schwefligen Säure ergab im zweiten Fasse 84, im dritten Fasse 99 mg pro Liter. (Es verbrannte nicht aller Schwefel, besonders im letzteren Fasse, und zudem entwich beim Einfüllen des Mostes eine beträchtliche Menge von schwefliger Säure.) Die Obstweine zeigten folgende Mostgewichte:

| | am 16. Sept. | 23. Sept. | 26. Sept. | 29. Sept. | 7. Okt. | 15. Okt. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nicht eingebrannt | 68 | 60 | 47 | 34 | 16,5 | 10 | ° Oechsle |
| 84 mg $SO_2$ | 68 | 67 | 55 | 40 | 18 | 10 | „ |
| 99 „ „ | 68 | 68 | 56 | 40 | 18 | 10 | „ |

Am 15. November wurden die Birnweine abgezogen; der Trub erwies sich bei den eingebrannten frei von Bakterien, während solche in den nichteingebrannten vorhanden waren. Bei der Kostprobe zeigten die eingebrannten einen unangenehmen, offenbar vom Einbrennen herrührenden Beigeschmack. Nun blieben die Moste sorgfältig vollgehalten in Fässern bis 11. Mai liegen. Der Trub zeigte jetzt in dem nichteingebrannten elliptische und pastoriane Hefeformen, Apiculatus-Hefe und ziemlich viel Bakterien, derjenige der eingebrannten wiederum weder Apiculatus-Hefen noch Bakterien. Letztere Weine schmeckten jetzt besser als der nichteingebrannte, der deutlich den Mangel eigentlicher Fruchtsäuren und die Anwesenheit von flüchtiger Säure erkennen ließ und matten Geschmack zeigte. Die chemische Untersuchung ergab am 11. Mai folgendes Resultat:

Tabelle 6.

| | Alkohol Gew. % | Zucker ‰ | Gesamtsäure (als Apfelsäure) ‰ | Flüchtige Säure (als Essigsäure) ‰ | Nichtflüchtige Säure (als Apfelsäure) ‰ | Milchsäure ‰ | Apfelsäure ‰ | Extrakt ‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nichteingebrannt | 6,27 | 2,96 | 4,72 | 0,78 | 3,88 | 3,72 | 1,08 | 43,23 |
| 84 mg $SO_2$ | 6,29 | 2,76 | 6,01 | 0,49 | 5,46 | 1,37 | 4,43 | 45,36 |
| 99 „ „ | 6,47 | 1,81 | 6,04 | 0,54 | 5,44 | 1,16 | 4,58 | 45,52 |

(die nichtflüchtige Säure = Gesamtsäure — flüchtige Säure, alle als Apfelsäure berechnet; die Apfelsäure = nichtflüchtige Säure — Milchsäure, beide als Apfelsäure berechnet.)

Bei diesem „Faßversuch" hat sich also infolge der Beschaffenheit der verwendeten Früchte der günstige Einfluß der schwefligen Säure deutlich gezeigt, indem im nichteingebrannten Most sich mehr flüchtige Säure als Milchsäure entwickelte, während der Gehalt an Apfelsäure bedeutend zurückging. Die geringere Menge schwefliger Säure wirkte ebenso günstig wie die größere; voraussichtlich hätte auch hier eine noch geringere Menge schwefliger Säure genügt. Der Gehalt an schwefliger Säure betrug im Weine aus schwächer eingebranntem Most: gesamt 83 mg im Liter, freie 4 mg, im Wein aus etwas stärker eingebranntem Most 96 bezw. 5 mg $SO_2$.

Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. Universität zu Tokio.]

Von **K. Saito.**

Mit 5 Tafeln.

Schon vor grauer Zeit soll der Sage nach von Japanern ein Mittel zum Salzen der Speisen hergestellt worden sein. Vor ca. 300 Jahren erfuhr das Verfahren eine bedeutende Verbesserung durch den Verkehr mit Chinesen, welche damals auf höherer Kulturstufe standen, und erst von diesem Zeitpunkt an ist das Produkt unter dem Namen Soya (nom. japon. Shōyū) überall bekannt geworden. Darauf fand dieses Mittel eine ausgedehnte Verwendung, welche mit den industriellen Fortschritten sich immer mehr steigerte, und heutzutage bildet es das allgemeine Salzungsmittel in Japan, dessen Herstellung einen wichtigen Industriezweig bildet. In stetem Wachstum nahm die Produktion allmählig zu, bis sie im Jahre 1903 nahezu 4 Millionen Hektoliter betrug, was dem Staat an Steuern rund 7 Millionen Mark eintrug.

Trotzdem wir es hier mit einer Industrie von so hoher wirtschaftlicher Bedeutung zu tun haben, hat sie sich lange der Aufmerksamkeit der Forscher entzogen, und es fehlt an Arbeiten, die sich einen näheren Verfolg der verwickelten Stoffumsetzungen bei dem Bereitungsprozeß und eine genaue Erforschung der dabei beteiligten Mikroorganismen zur Aufgabe stellten. Allgemein bekannt ist aber die Tatsache, daß Aspergillus Oryzae bei der Stoffumwandlung der Rohmaterialien, Weizen und Soyabohnen, eine unentbehrlich wichtige Rolle spielt[1]).

Die Literatur unseres Gegenstandes, die hier in üblicher Weise vorauszuschicken ist, ist daher noch sehr dürftig, denn es gibt überhaupt nur einige kurze Mitteilungen von Murai[2]), Nagai und Murai[3]), Tahara und Kitao[4]), Furukawa[5]) und Shimada[6]), welche sich alle mit den chemischen Zusammensetzungen der Handelsartikel beschäftigt haben.

Etwas gründlichere Aufmerksamkeit widmete Nishimura[7]) den chemischen Umsetzungen, die bei der Kojiherstellung und Maischenreifung eintreten, und fand, daß Stärke und Eiweiß in den Rohstoffen einem tiefgreifenden Abbau verfallen und daß die Alkoholbildung in der Maische eine unabänderliche Tatsache ist. Doch sind seine Erfahrungen über die mikrobiologische Zusammensetzung des Koji und der Maische nicht ganz befriedigend für die Erklärung dieser verwickelten Gärprozesse. Aus seinen Versuchen schließt er unter anderem auch, daß bei der Soyaherstellung Aspergillus Oryzae der wesentliche Pilz für die Stärke-

1) Kellner, O., Ueber Bereitung von Saké, Shoyu und Miso. (Chemiker-Ztg. 1895. p. 97.)

2) Murai, J., Tokio Eiseisiken Iho (japanisch). Vol. VIII. 1895. p. 25.

3) Nagai, N. und Murai, J., Königs Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. 3. Aufl. Bd. I. p. 242.

4) Tahara, Y. und Kitao, M., Journal of the pharmaceutical Society of Japan (japanisch). No. 61. 1887. p. 80.

5) Furukawa, S., ebenda No. 102. 1890. p. 494.

6) Shimada, ebenda. No. 146. 1894. p. 297.

7) Nishimura, Y., The chemistry of Soja sauce manufacture. (Bulletin Coll. Agric. Tokyo. Vol. III. 1897—98. p. 191.)

Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

verzuckerung und Eiweißzersetzung ist und daß infolge der hochkonzentrierten Zugabe von Kochsalz die in der Maische zum Vorschein kommenden Bakterien keine nennenswerte Lebenstätigkeit entfalten können. Doch dürfen wir seinem Schluß nicht beistimmen, denn das von ihm verwendete Plattenverfahren ist nicht immer zweckmäßig für die Isolierung einiger Mikrobenarten, und tatsächlich sind sogar in der Literatur [1]) einige Bakterien bekannt geworden, welche sich in hochkonzentrierten Salzlösungen wohl üppig entwickeln können.

Wenn Nishimura auch der graduellen Bildung des Alkohols die Entstehung des eigentümlichen Aromas des Soya zuschrieb, so muß es recht auffallen, daß er doch den Hefen keine Berücksichtigung geschenkt hat. Von den letzteren teilt Nishimura nur kurz mit, daß er aus der Maische stets zwei Arten von Sproßpilzen, wovon eine großzellige Art der Sakéhefe und eine andere kleinzellige dem Saccharomyces exiguus ähnlich ist, isolieren konnte.

Um also für eine wissenschaftlich begründete Soyatechnologie das Fundament zu legen, ist eine weitere Bearbeitung über den Gärverlauf von chemischer und mikrobiologischer Seite als sehr wünschenswert zu betrachten. Diesem Umstande verdankt die vorliegende Arbeit ihren Ursprung, welche ausschließlich den Mikroorganismen gewidmet ist, die an Mannigfaltigkeit, vielleicht auch an Masse, in Bezug auf Stoffumsetzungen bei der Soyabereitung wesentliche oder verwerfliche Wirkung entfalten.

Diese Arbeit wurde unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Miyoshi im hiesigen botanischen Laboratorium ausgeführt. Für seine freundliche Anregung und Unterstützung möchte ich nicht unterlassen, ihm meinen aufrichtigen Dank auszusprechen. Ebenso bin ich dem Meister der Soyabrauerei in der Stadt Chōshi, Herrn Hamaguchi, welcher mir reichliche Untersuchungsmaterialien in liberalster Weise gesandt hatte, zu großem Dank verpflichtet.

Bevor wir nun dazu übergehen, unsere eigenen Untersuchungsergebnisse darzulegen, scheint es angebracht, einige Worte über die Herstellungstechnik [2]) vorauszuschicken, welche bisher nicht genug berücksichtigt war. Eine Bekanntschaft der Leser mit der Tecknik wird ihnen das Verständnis der eigentlichen Ergebnisse erleichtern.

## I. Technik der Soyaherstellung.

Das ganze Verfahren der Soyaherstellung gliedert sich in 3 Stufen:

1) Die Bereitung des Koji,
2) Der Hauptprozeß, Moromi (Maische),
3) Das Pressen, Klären und Pasteurisieren.

---

1) Zopf, W., Beiträge zur Morphologie und Physiologie niederer Organismen. Heft 1. 1892. — Fischer, A., Untersuchungen über Bakterien. (Pringsheims Jahrb. für wiss. Bot. Bd. XXVII. 1895. p. 1.) — Petterson, A., Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fisch und Fleisch mit Salzen. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. Heft 2/3. p. 171. — Lewandowsky, F., Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. (Centralblatt für Bakteriol. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 467.) u. s. w.

2) Die Manipulationen bei der Soyaherstellung unterscheiden sich in jeder Brauerei etwas. Die im folgenden angegebenen beziehen sich auf die Brauerei, aus welcher unsere Untersuchungsmaterialien stammen und woselbst eine gute Ware hergestellt wird, die zu der anerkannt besten des ganzen Landes zählt.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## 1. Die Bereitung des Koji.

Das Koji ist der Ausgangspunkt der ganzen Herstellungsprozesse. Es ist aber nichts anderes als eine Pilzvegetation des Aspergillus Oryzae auf dem Gemische der gekochten Soyabohnen mit gebranntem Weizen.

Um den Weizen gebrauchsfähig zu machen, wird er nach gründlicher Reinigung und Wäsche in einer großen Eisenpfanne möglichst gleichmäßig gebrannt und sogleich mit Hilfe einer Walze zerkleinert. Durch diesen Prozeß nimmt die ganze Masse des Weizens eine schwarzbraune Färbung und einen angenehmen Geruch an.

Die Soyabohnen sollen auch zuerst gewaschen und so von allem übrigen Mischmasch möglichst befreit werden. Danach werden die Bohnen im Wasser 6 Stunden lang gequellt, dann bringt man sie sofort in hermetisch verschlossene große Gefäße aus Eisen, wo sie durch Wasserstrom ca. 4—5 Stunden lang eingeströmt werden. Alsbald wird die Strömung abgestellt und läßt man die Bohnen darin 12 Stunden lang bleiben, wonach eine Flüssigkeit von rotbrauner Farbe heraustritt. Ist die Masse ungefähr lauwarm geworden, so wird sie sofort mit gleicher Menge des oben erwähnten Weizens möglichst innig vermischt und ohne Verzug in Mengen von etwa 1,6 Litern auf kleinen, mit Randleisten versehenen Brettchen verteilt und die so mit dem Gemische gefüllten Brettchen werden an beiden Seiten des Kojikellers parallel nebeneinander gelegt.

Zum Herstellen des Soyakoji bedient man sich in der Regel keines Samenkoji, welches beim Sakébrauen jedesmal den Rohmaterialien gleichmäßig zugesetzt werden muß. Die Entbehrlichkeit des Samenkoji bei der Soyaherstellung hat ihren Grund darin, daß der eine Zeitlang gebrauchte Kojikeller an seiner Wand und auf seinem Boden sowie im Luftraum massenhaft Keime des Aspergillus Oryzae aufweist. Von allen diesen Infektionsquellen her treten die Pilzkeime in die Brettchen in genügend reicher Zahl hinein und können sich auf dem bereiteten Getreidegemisch weiter entwickeln. Nur in einem neu gebauten Kojikeller pflegt jedoch das Samenkoji Anwendung zu finden.

Von dieser Zeit an schreitet das Wachstum des Pilzes auf den Brettchen immer schnell vorwärts. Dabei findet eine intensive Atmung des Pilzes statt, so daß eine starke Bildung von Kohlensäure und Wärme (bis 42—45° C) vor sich geht. Zum Regulieren der Kellertemperatur und zum Entfernen von Kohlensäure, welche die Entwickelung des Pilzes beeinträchtigt, bedient man sich eines an dem Dache befindlichen Ventilationsloches, welches mit einer gut schließenden Klappe versehen ist und nach Bedarf geöffnet oder geschlossen werden kann. Um ein gutes Koji zu erzeugen, ist es für den Praktiker nötig, die Kellertemperatur auf etwa 28—30° C zu halten.

Am ersten Tage rührt man das Gemisch 2—3mal tüchtig um, von da ab aber täglich nur 1mal. Nach 4—5-tägigem Stehen bedeckt sich das Getreidegemisch an der ganzen Oberfläche mit weißen Mycelien, welche allmählich gelbliche Konidien massenhaft ausbilden. Ist dies eingetreten, so betrachtet man das Koji als reif und kommt es bald zur Verwendung.

Bei allen diesen Manipulationen gehen nach Nishimura von dem Trockengewicht der Soyabohnen und des Weizens 10,1 Proz. verloren, welche das Verbrennungsmaterial für den Pilz liefern. Nach ihm

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nimmt die Stärke im prozentigen Verhältnisse merklich ab, dafür tritt aber eine reichliche Menge von reduziertem Zucker auf.

### 2. Hauptprozeß.

Ist im Koji eine für die Praxis genügende Entwickelung des Pilzes erreicht, so schreitet man zur eigentlichen Soyaherstellung. Der erste Akt besteht in einer Vermischung des Koji mit Kochsalz und Wasser. Das Mengenverhältnis der letzteren Zusätze ist sowohl je nach der Brauerei als nach der herzustellenden Warenqualität verschieden. In der Brauerei, aus welcher unsere Untersuchungsmaterialien stammen, ist in der Regel das Mengenverhältnis 50 tō[1]) Bohne, 46 tō Weizen, 90 tō Wasser und 12,5 Kwamme[2]) Salz.

Um die Maische herzustellen, läßt man zuerst Wasserdampf in die Mischung von Salz und Wasser einströmen, bis sich die letztere bis zum Siedepunkte erhitzt hat. Ist das so bereitete Salzwasser etwa 45° C warm geworden, so wird es in einen großen, aus Holz der Cryptomeria japonica hergestellten Gärbottich gegossen; dann vermischt man das Koji unter kräftigem Umrühren gleichmäßig mit gesalztem Wasser.

Die hergestellte Maische wird täglich 1mal mit einem Rührscheit tüchtig umgerührt. Der Zweck dieses Umrührens scheint je nach dem Stadium der Gärung ein ungleicher zu sein. Im ersten Stadium bezweckt es, das Wasser, Salz und Koji möglichst innig zu vermischen. Im Gegensatz dazu macht sich das Umrühren in späteren Stadien notwendig, um erstens die Aeration für die Mikroorganismen zu gestatten und zweitens die sonst oft auf der Oberfläche auftretende Kahmhaut zu vermeiden.

Auf diese Weise läßt man die Maische 1—1¼ Jahr lang in Gärung verharren. Die Masse nimmt allmählich eine tief rotbraune Farbe an, und zugleich tritt ein eigentümliches Aroma hervor. Der Grund der langen Dauer dieses Gärprozesses liegt zweifellos darin, daß der hochkonzentrierte Salzgehalt die Entwickelung der beteiligten Mikroorganismen notwendigerweise beeinträchtigen muß.

Nach den Untersuchungen Nishimuras wurde die Stärke im Verlauf der Gärung noch weiter verzuckert und das Eiweiß in nicht eiweißartige Substanzen verwandelt unter Abspaltung von Ammoniak. Er berichtet auch über das Entstehen von Alkohol und Säuren in der Maische.

Ist die Gärung bis zu einem für die Praxis ausreichenden Maße vorgeschritten, so unterwirft man die Maische alsbald der Pressung.

### 3. Das Pressen, Klären und Pasteurisieren.

Um Soya in möglichst reichlicher Menge zu gewinnen, unterwirft man die vergorene Maische einer entsprechenden Pressung. Dies geschieht in der Weise, daß die Maische in dichte, mit dem gerbsäurereichen Saft der unreifen Dattelpflaume, Diospyrus Kaki, getränkte kleine Beutel von etwa 1 Liter Kapazität gefüllt wird, welche am offenen Ende umgeschlagen und in einen starken hölzernen Preßkasten gebracht sind. Ist der Kasten, der 800 solcher Beutel faßt, endlich gefüllt, so legt man eine dicke Bohle auf den Beutelhaufen auf. Eine fast klare Flüssigkeit läuft nun durch die am Boden des Kastens befindlichen Kanälchen und endlich in ein in die Erde eingegrabenes großes Holzgefäß ab. Sinkt

1) 1 to = 18,039 Liter.
2) 1 Kwamme = 3,75 kg.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Beutelhaufen allmählich nieder, so fängt man an, durch Einlegen noch einiger kleiner Bohlen die Beutel einer weiteren starken Pressung zu unterwerfen. Nach etwa einer Woche fließt nicht mehr genügend Soya ab und die Presse wird abgenommen. Der auf diese Weise gewonnene Rückstand enthält noch viel Stärke, Oel (ätherisches Extrakt 22 Proz.) und Rohfaser. Er wird gewöhnlich als Dünger verkauft.

An der Oberfläche des ausgepreßten Soya beginnt allmählich eine dicke Oelschicht emporzuschwimmen, deren Menge 1 Proz. des ganzen Soya entspricht. Nach Ablassen des Oels wird der Soya alsbald in einen großen Klärbottich übergeschöpft, gut bedeckt und aufbewahrt. Nach 2—3 Tage langem Stehen, während dessen die flottierende Masse am Boden vollständig niedersinkt, zieht man aus einem, an der Bottichseite und nicht zu weit entfernt vom Boden befindlichen Spundloche den geklärten Soya ab. Der so abgezogene Soya wird immer in einen großen eisernen Dampfkessel übergeschöpft und ganz langsam bis auf 50° C erwärmt. Ist diese Temperatur erreicht [1]), so rührt man die Flüssigkeit mit einem Rührscheit um und zieht sofort den heißen Soya in viele, aus dem Holz der Cryptomeria japonica hergestellte Versandfässer von 0,9 tō oder 3,5 tō Kapazität ab, welche man mit kleinen, gut schließenden Stopfen versieht. In den meisten Fällen läßt sich der so pasteurisierte Soya ohne weiteres gut aufbewahren. Wird jedoch das Faß wieder geöffnet, so droht der Soya während des Aufbewahrens umzuschlagen, was gewöhnlich mit dem Auftreten einer Kahmhaut an der Oberfläche beginnt.

Der so hergestellte Soya bekommt in den günstigsten Fällen eine dunkel rotbraune Farbe und mäßig salzigen Geschmack (aber nie soll er bitter oder zusammenziehend sein). Der Genuß desselben wirkt auf den Japaner immer angenehm und erfrischend.

Zur Begründung unserer eigenen Ergebnisse sei eine Uebersicht über die bekannten chemischen Umsetzungen während des ganzen Herstellungsprozesses angeschlossen. Wir können die Umsetzungen in folgende drei Phasen zerlegen:

1) Verzuckerung der Stärke und Abspaltung des Eiweißstoffes (bis zu Ammoniak).

2) Säurebildung in der Maische (Milchsäuregärung) [2]).

3) Alkoholbildung in der Maische. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Aroma des Soya mit dem Alkohol in untrennbarem Zusammenhang steht.

Durch unsere Versuche wurden die Organismen, welche bei diesen Umsetzungen sich beteiligen, ans Licht gebracht. Ueberdies konnten auch einige in der Praxis verwerfliche Pilzarten aus dem Koji und der Maische isoliert werden.

---

1) Solche niedrige Temperatur genügt natürlich nicht zum Vernichten der widerstandsfähigen Mikrobenarten. S. Ansai, Bakteriol. Untersuchungen über Shōyū. [Japanisch.] (Mitteilungen der med. Gesellschaft zu Tokio. Bd. XVII. 1903. No. 6. p. 209) konstatierte in dem Soya stets reichliche Keime des Bac. subtilis und wenige des Bac. mesentericus vulgatus. Die letzteren können aber im Soya infolge des konzentrierten Kochsalzgehaltes nicht zur Entwickelung kommen. In praktischer Hinsicht ist eine Erwärmung über 50° C untunlich, da sonst das Aroma eine Einbuße erleidet.

2) Nach den mündlichen Mitteilungen meines Kollegen Herrn T. Suzuki im hiesigen chemischen Laboratorium entspricht die Milchsäure einem großen Teile der nichtflüchtigen Säuren in dem Soya und der Maische.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## II. Methode für das Isolieren der Mikroorganismen.

Was zunächst das makroskopische Aussehen der Kojikörner anlangt, so kann man meist die dunkelgelben Konidienmassen nachweisen. Mikroskopische und kulturelle Präparate legen es außer Zweifel, daß der prinzipielle Pilz des Koji kein anderer ist als Aspergillus Oryzae. Zur Isolierung der Mikroorganismen bediente ich mich zunächst des üblichen Plattenverfahrens mit Kojidekoktgelatine, was in Bezug des Isolierens der im Koji vorhandenen Schimmelpilze zum Ziele führte. Einige Male gewannen aber Proteus-Arten, Bacillus subtilis etc. die Oberhand, so daß ich nicht die erwarteten Arten züchten konnte.

Mikroskopische Präparate der Maische stellt man am besten her, indem man mit Platindraht eine kleine Spur desselben auf einem Deckgläschen verreibt und im Wasser einrichtet. In den Präparaten sieht man dann von Organismen besonders Pilzfäden, Konidien, Hefezellen und großzellige Kokken, daneben auch kurze Stäbchen, letztere aber viel seltener. Um diese Arten zum Zwecke der Reinkultur isoliert zu erhalten, wurde eine Quantität der wohl verdünnten Maische in Kojigelatine mit Zusatz von 17 Proz. Kochsalz verteilt und sofort in üblicher Weise auf die Platten gegossen. Die letzteren bedecken sich darauf dicht mit gelblichgrauen Kolonieen der Hefen und können ohne Mühe abgeimpft werden. In anderen Fällen kam neben den Hefenkolonieen meist nur noch ein Mycelpilz auf, der sich leicht als Aspergillus Oryzae nachweisen ließ, aber niemals entwickelten die in der Maische so zahlreich vorhandenen Kokken und Stäbchen Bakterien.

Als ich somit sah, daß die Plattenkulturen in Bezug auf die Bakterienisolierung nicht zum Ziele führten, bediente ich mich der Kultivierung in flüssigen elektiven Nährsubstraten, welche in überwiegendem Maße den Stoff enthielten, an welchem sich die spezifische Funktion betätigen sollte. Ich bediente mich hierbei als Nährboden des Salzkojidekokts[1]; daraus erwuchs mir der Vorteil, daß diese Lösung eine gute Nahrung für die an der Maischenreifung teilnehmenden Mikroorganismen abgeben mußte und daß sie zugleich durch den hochkonzentrierten Kochsalzgehalt die Entwickelung der unerwarteten Arten ganz auszuschließen geeignet ist.

Ich begann zuerst mit der stufenweisen Verdünnung der Maische im sterilisierten Salzkojidekokt.

Die verdünnte Lösung wurde tropfenweise in viele verschiedene Kolben verteilt, welche alle mit derselben Nährflüssigkeit eingegossen waren. Nach einwöchigem Stehen in Zimmertemperatur entwickelte sich eine Menge Mikroorganismen in den Kulturkolben und der größte Teil derselben zeigte schwache Gasentbindung. Mikroskopische Präparate davon wiesen reichliche Hefezellen, Kugel- und Stäbchenbakterien auf. Morphologisch sind die beiden letzteren nicht verschieden von den in der Maische gefundenen Arten. Darauf folgte in üblicher Weise die Gewinnung der Reinkultur für die entwickelten Mikroorganismen, und zwar mit dem besten Erfolge.

Wir haben hier hinzuzufügen, daß sich die Pizflora in den Kolben bei langer Aufbewahrung allmählich ändert; alsbald tritt eine weiße oder grauweiße Kahmhaut auf der Oberfläche der Flüssigkeit hervor. Von der letzteren war ich im stande, drei Arten Sproßpilze zu isolieren.

---

1) Salzkojidekokt bedeutet den Kojidekokt mit 17 Proz. Kochsalz, wie auch im folgenden.

Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Mit dem Koji unternahm ich auch den Anhäufungsversuch, wodurch die gleichen Pilzarten wie bei der Maische konstatiert wurden.

Nachdem das erste Material der Hefen für die Reinkultur gewonnen war, wurden Plattenkulturen in Würze- oder Kojidekoktgelatine hergestellt, um besagtes Material weiter zu reinigen und zu isolieren. In der Kojidekoktgelatine, die mit geringem Material — es wurden Tropfen eines verdünnten Materials in 10 ccm Kojidekoktgelatine geimpft — beschickt und in sterile Petri-Schalen ausgegossen war, entwickelten sich die Kolonieen recht gut, da Kojidekoktgelatine ein gutes Nährmedium für die betreffenden Sproßpilze abgibt. Es wurde nun eine von den auf der Gelatine gebildeten Hefenkolonieen in Kojidekokt zur Entwickelung gebracht und alsdann zur Reinkultur nach der Art von Lindners Tröpfchenkultur geschritten.

Was die Reinkultur der Schimmelpilze und Bakterien angeht, so wurden die Plattenkulturen mehrere Male wiederholt und so das Ziel erreicht.

Es soll im folgenden zunächst die Liste der von mir reingezüchteten Pilzarten gegeben werden; Näheres über deren Eigenschaften folgt weiter unten.

**I. Schimmelpilze.**

a) Aspergillus Oryzae (Ahlbg.) F. Cohn.
b) Rhizopus japonicus (= $\beta$ Amylomyces) nov. var. angulosporus.
c) Tieghemella hyalospora nov. spec.
d) Cladosporium herbarum Link.
e) Penicillium glaucum Link.
f) Oospora sp.

**II. Hefen.**

a) Saccharomyces Soya nov. spec.
b) Saccharomyces farinosus Lindner.
c) Soya-Kahmhefe (echte Saccharomycetenart).
d) Mycoderma sp.
e) Torula sp.

**III. Bakterien.**

a) Bacterium Soya nov. spec.
b) Sarcina Hamaguchiae nov. spec.
c) Bacillus subtilis Cohn.
d) Bacillus mesentericus vulgatus Flügge.

## III. Spezielle Ausführungen.

### 1. Schimmelpilze.

#### a) Aspergillus Oryzae (Ahlbg.) F. Cohn.

Dieser Pilz ist bereits vielfach eingehend untersucht worden, so daß wir die für unsere Untersuchungen notwendigen Eigenschaften nur kurz zu streifen brauchen.

Von botanischer Seite wurde dieser Pilz zuerst im Jahre 1883 von F. Cohn mit dem Namen Aspergillus Oryzae belegt, welcher seit Ahlburg bis dahin der Gattung Eurotium unterstellt war. Weiter wurden die morphologischen Eigenschaften dieses Pilzes in den Mit-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

teilungen von Schröter[1]), Büsgen[2]) und besonders von Wehmer[3]) klargestellt. In der neuerdings von Wehmer[4]) publizierten Monographie der Gattung Aspergillus findet man wiederum ausführliche Angaben über diesen Pilz, der dort mit anderen Arten verglichen ist. In seiner Mitteilung hat er aber die Sklerotien, welche Klöcker und Schiönning[5]) bei ihren mit dieser Art angestellten Experimenten gelegentlich gefunden haben, ganz mit Stillschweigen übergangen. Ich fühle mich deshalb veranlaßt, bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam zu machen.

In der Myceliendecke, welche sich auf der Peptonrohrzuckerlösung entwickelt hatte, fand ich zufällig (die Kultur wurde im September 1904 angestellt) sehr kleine knollenförmige Sklerotien, die meist gehäuft auftreten. Die aus wenigen Schichten von isodiametrischen Zellen bestehende Rinde ist bräunlich gefärbt und die Zellen sind dickwandig. Das Mark erscheint auf der Schnittfläche rötlichbraun und seine Zellhäute sind im Vergleich mit der Rinde dicker und ungefärbt. Weder Ascusbildung noch Auskeimung gelang es mir festzustellen[6]).

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

# Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter?

Von Dr. **Julius Stoklasa,**

o. ö. Professor an der k. k. böhm. techn. Hochschule und Direktor der chem.-physiol. Versuchsstation in Prag.

In letzterer Zeit haben zahlreiche Forscher die Vermutung ausgesprochen, daß im Boden Stickstoffverluste eintreten können infolge Reduktion der Salpetersäure und salpetrigen Säure in elementarem Stickstoff durch die Einwirkung denitrifizierender Bakterien.

Sicherlich ist diese Erscheinung von großem Interesse und Wichtigkeit auch für den Zuckerrübenbau, wo die reichliche Verwendung von Chilisalpeter beinahe die Regel ist.

Bekanntlich entsteht durch die reduzierende Wirkung der denitrifizierenden Bakterien aus dem salpetersauren Salze vorerst salpetrige Säure und zum Schluß elementarer Stickstoff. Diese Bakterien sind entschieden aërob und ihre Entwickelung ohne atmosphärischen Sauerstoff in nitratfreien Lösungen ist unmöglich.

---

1) Schröter, J., Kryptogamenflora Schlesiens. Bd. III. 1893. p. 214.

2) Büsgen, M., Berichte der d. bot. Ges. Bd. III. 1885. Generalvers.-Heft 9. p. 66.

3) Wehmer, C., Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Sakébrauerei. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 150.)

4) Wehmer, C., Die Pilzgattung Aspergillus etc. 1901. p. 73.

5) Klöcker, A. und Schiönning, H., Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung des Aspergillus Oryzae in einen Saccharomyceten. (Centralblatt für Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 782.)

6) Von diagnostischen Merkmalen ist besonders hervorzuheben, daß die Konidien dieses Pilzes durch ihre Polychromie ausgezeichnet sind. Auf diese Erscheinung ist von Wehmer (Aspergillus Oryzae. Centralblatt für Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 210) schon aufmerksam gemacht worden, aber ohne eigene Erklärung.

Wenn wir den Reis und Soyakoji miteinander vergleichen, so fällt uns die Polychromie der Konidien sehr deutlich auf; das erstere zeigt sich stets olivengrün bis tiefgrün, während das letztere meist dunkelgelb gefärbt ist. Um das Wesen der Erscheinung näher zu erforschen, wurden einige Versuche angestellt. Doch ergab sich auf diese Weise noch keine vollgültige Erklärung der Erscheinung, in der Folge werde ich daher noch eine ausführlichere Untersuchung anstellen und deren Ergebnisse später mitteilen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Remy[1]), Wohltmann und Fischer[2]), Ehrenberg[3]) u. a., die auf die Möglichkeit denitrifizierender Prozesse im Boden hingewiesen haben, benützten zum Nachweise denitrifizierender Bakterien im Boden die allgemein angewandte Giltay-Abersonsche Nährlösung, die, wie folgt, zusammengesetzt ist: 2 g Natriumnitrat, 5 g Citronensäure, 2 g Magnesiumsulfat, 2 g Dikaliumphosphat, 0,2 Chlorcalcium, etwas weniges Eisenchlorid und 2 g Glukose per Liter Wasser. Die Lösung wurde mit Natriumkarbonat bis zu schwach alkalischer Reaktion neutralisiert.

Da diese Lösung neben Citronensäure (in Form neutralen Salzes) auch Glukose enthält, so ist sie, wie bereits in einer unserer früheren Arbeiten nachgewiesen wurde, ein sehr geeignetes Nährmedium für denitrifizierende Bakterien[4]).

Mit Hilfe dieser Lösung konnten wir denitrifizierende Bakterien in allen böhmischen Rübenböden, die wir zu untersuchen Gelegenheit hatten, feststellen und zwar insbesondere nachstehende Species: Bact. Hartlebi, Bac. fluoresc. liquefaciens, Bact. pyocyaneum, Bac. Stutzeri, Bac. filefaciens, Bact. centropunctatum, Bact. nitrovorum und Bac. denitrificans[5]).

Interessant ist wohl, daß unsere Rübenböden eine beträchtliche Menge von Denitrifikationsbakterien enthalten, und es drängt sich von selbst die Frage auf, ob diese Bakterien Stickstoffverluste im Ackerboden, namentlich bei reichlicherer Anwendung von Chilisalpeter, bewirken können, wie dies viele Forscher annehmen.

Wir sind der Lösung dieser Frage nähergetreten und haben die Untersuchung folgendermaßen geführt:

In die Kolben wurden je 500 ccm Giltaysche Nährlösung abgemessen und in jeden der Kolben auf die bereits angegebene Weise 50 g Ackerboden gebracht. Durch die mit einer geeigneten Vorrichtung versehenen Kolben wurden 10 l kohlendioxydfreie Luft getrieben; das durch die Lebensenergie der Denitrifikationsbakterien entstandene Kohlendioxyd wurde gewichtsanalytisch bestimmt. Nach Beendigung des Versuches wurde in der Lösung der Stickstoff in Form von Ammoniak und Salpetersäure, resp. deren Salzen, bestimmt, wobei natürlich die ursprünglich in der Giltayschen Lösung und in dem Boden vorhandene Salpetersäure berücksichtigt wurde. Zum Zwecke der notwendigen Kontrolle wurde der in 500 ccm destilliertem Wasser vorhandene Stickstoff bestimmt.

Wir lassen nun eine Uebersicht der von uns ausgeführten Versuche folgen:

I. Reihe. Benützt wurde eine vollständige Giltay-Abersonsche Lösung. Die Böden waren:

a) ungedüngt,
b) mit Stallmist gedüngt,
c) mit Chilisalpeter gedüngt.

---

1) Remy, Bodenbakteriologische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 660.)

2) Wohltmann und Fischer, Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem Versuchsfelde. (Journ. f. Landw. 1904.)

3) Ehrenberg, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1904.)

4) Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedener Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrats durch Bakterien. (Centralbl. für Bakteriologie etc. 1905.)

5) Die weitere erforderliche Isolierung der einzelnen denitrifizierenden Specien wurde von H. Jensen in den „Beiträgen zur Morphologie und Biologie der Denitrifikationsbakterien" beschrieben. (Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 402.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Reihe. Der Versuch wurde wie bei I. durchgeführt, nur mit dem Unterschiede, daß in der Nährlösung bloß 2 g Glukose ohne Citronensäure vorhanden waren.

III. Reihe. Der Versuch wurde analog wie ad II. angestellt, doch gelangte eine Lösung mit 7 g Glukose, jedoch ohne Citronensäure, zur Verwendung. Die Gärung trat in 24 Stunden ein; da sich aber später auf der Oberfläche der Flüssigkeit einiger Kolben immer Schimmelpilze zu bilden begannen, wurde von weiteren Versuchen in dieser Richtung abgelassen.

IV. Reihe. Benützt wurde eine Giltay-Abersonsche Lösung ohne Glukose, sowie ohne Citronensäure. Es wurden dieselben Böden verwendet, wie bei den vorhergehenden Versuchen. Der Versuch bei dieser Reihe dauerte 14—17 Tage. Auf der Oberfläche der Lösung bildete sich zwar eine ganz schwache Haut, die Lösung aber blieb klar.

V.—VII. Reihe. Die verwendete Lösung hatte die gleiche Zusammensetzung wie bei der IV. Versuchsreihe. Die Böden waren humusreich. Die Lösung blieb dauernd klar, bloß an der Kolbenwand bildeten sich dünne Streifen.

Aus Tabelle I sind die Versuchsergebnisse mit verschiedenen Böden zu erkennen, die Denitrifikationsbakterien in bedeutender Menge enthielten.

Dort, wo vollständige Giltay-Abersonsche Lösung oder Giltay-Lösung mit Glukose oder mit Citraten verwendet wurde, trat am 2. bis 3. Tage schwache Nitratgärung ein, die sich bis zum 5. Tage bedeutend verstärkte.

In den Fällen, wo das Nährmedium Citronensäure oder Glukose enthielt, waren also wirklich Verluste an Stickstoff und zwar in elementarer Form, zu verzeichnen. Diese perzentuell ausgedrückten Verluste, auf Gesamtstickstoff gerechnet, betrugen 81—91 Proz. im Laufe von 14—17 Tagen.

Wurde jedoch Giltay-Abersonsche Lösung ohne Glukose und Citronensäure, also ohne die zu den Dissimilationsprozessen der denitrifizierenden Bakterien erforderlichen Kohlenhydrate und organischen Säuren benützt, so trat keinerlei Stickstoffverlust ein, wie aus den Versuchsreihen IV.—VII. zu ersehen ist.

Besonders machen wir noch darauf aufmerksam, daß wir zu den Versuchen der V.—VII. Reihe sehr humusreiche Böden, also mit einem beträchtlichen Gehalte an organischen Substanzen, ja sogar auch einen Torfboden mit 15 Proz. Humus auswählten, und daß trotzdem in diesen Böden (resp. im Nährmedium) Stickstoffverluste nicht zu konstatieren waren.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Denitrifikationsbakterien in den im Boden vorkommenden organischen Substanzen nicht die zu ihrer Entwickelung notwendige Kohlenstoffnährquelle vorfinden, so daß wir selbst bei Gegenwart von 7—15 Proz. Humus im Boden Denitrifikationsprozesse in nennenswerterem Maße nicht zu beobachten vermochten, und es können demnach auch in den Böden keine Stickstoffverluste durch das Wirken der genannten Denitrifikationsbakterien entstehen.

Um den durch die Denitrifikationsprozesse hervorgerufenen Chemismus kennen zu lernen, bestimmten wir das Kohlendioxyd, welches durch die Tätigkeit der glykolytischen Enzyme bei den Respirationsprozessen gebildet wird.

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Tabelle I.**
Temperatur 25° C.

| | Bodenart | Lösung | Versuchsdauer | Der Boden enthielt: Humus in Proz. | Der Boden enthielt in 50 g: N als $NH_3$ | Der Boden enthielt in 50 g: N als $N_2O_5$ | In der Lösung war N in Form von $N_2O_5$ | Demnach enthielt die Lösung vor dem Versuche: N in Form von $NH_3$ | Demnach enthielt die Lösung vor dem Versuche: N in Form von $N_2O_5$ | Nach dem Versuche war in der Lösung: N in Form von $NH_3$ | Also Zunahme: N in Form von $NH_3$ | Also Zunahme: N in Form von $NH_3$ | N in Form von $N_2O_5$ | Differenz an N nach Hinzurechnung von $NH_3$ zu dem restlichen $N_2O_5$ [1] | Differenz an N nach Hinzurechnung von $NH_3$ zu dem restlichen $N_2O_5$ [1] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Tage | | g | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | g | Proz. |
| I | Ungedüngt | Komplette Giltaylösung | 17 | — | 0,0042 | — | 0,1645 | 0,0042 | 0,1645 | 0,0123 | 0,0081 | 4,92 | 0,0070 | 0,1494 | 90,82 |
| | | Giltaylösung ohne Citronensäure | 17 | — | 0,0042 | — | 0,1659 | 0,0042 | 0,1659 | 0,0154 | 0,0112 | 6,75 | 0,0035 | 0,1512 | 91,14 |
| II | Gedüngt mit Stallmist | Komplette Giltaylösung | 15 | — | 0,0042 | — | 0,1645 | 0,0042 | 0,1645 | 0,0148 | 0,0106 | 6,44 | 0,0035 | 0,1504 | 91,44 |
| | | Giltaylösung ohne Citronensäure | 17 | — | 0,0042 | — | 0,1659 | 0,0042 | 0,1659 | 0,0150 | 0,0108 | 6,51 | 0,0035 | 0,1516 | 91,38 |
| III | Gedüngt mit Chilisalpeter | Komplette Giltaylösung | 14 | — | 0,0006 | 0,0011 | 0,1645 | 0,0006 | 0,1656 | 0,0091 | 0,0085 | 5,19 | 0,0042 | 0,1529 | 92,33 |
| | | Giltaylösung ohne Citronensäure | 17 | — | 0,0006 | 0,0011 | 0,1659 | 0,0006 | 0,1670 | 0,0176 | 0,0170 | 10,18 | 0,0154 | 0,1346 | 80,60 |
| IV | Gedüngt mit Chilisalpeter | Giltay-Abersonsche Lösung ohne Glukose u. Citronensäure | 14 | — | 0,0006 | 0,0011 | 0,1659 | 0,0006 | 0,1670 | 0,0176 | 0,0170 | 10,— | 0,1600 | | — |
| V | Torfboden | | 30 | 15,00 | 0,0021 | 0,0006 | 0,1603 | 0,0021 | 0,1609 | 0,0175 | 0,0154 | 9,57 | 0,1554 | + 0,0099 | * + 6,16 |
| VI | Humusreicher Boden | | 30 | 10,03 | 0,0008 | 0,0022 | 0,1603 | 0,0008 | 0,1625 | 0,0063 | 0,0055 | 3,38 | 0,1582 | + 0,0012 | * + 0,74 |
| VII | Humusreicher Boden | | 30 | 7,30 | 0,0013 | 0,0009 | 0,1603 | 0,0013 | 0,1612 | 0,0039 | 0,0026 | 1,61 | 0,1617 | + 0,0031 | * + 1,92 |

1) Bei den letzten 3 Versuchen, welche mit * bezeichnet sind, haben wir tatsächlich etwas mehr Ammoniak gefunden, welches sich dadurch erklären läßt, daß in den Humus- und Torfboden der vorhandene organische Stickstoff durch die Tätigkeit der Bakterien in Ammoniak verwandelt wurde.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Kohlendioxyd wurde nach den Methoden bestimmt, die ich in der Arbeit über „Aërobe und anaërobe Atmung der tierischen und pflanzlichen Organe" und bei der Isolierung glykolytischer Enzyme eingehend beschrieben habe [1]).

In Tabelle II ist die Menge des bei den Denitrifikationsprozessen entstandenen Kohlendioxydes ersichtlich gemacht.

Wie die Kohlendioxydmenge erkennen läßt, verliefen die Dissimilationsprozesse in der Giltay-Abersonschen Lösung mit Citronensäure weit intensiver als in der Lösung ohne dieselbe. Man kann bei Gegenwart von Citronensäure im Nährmedium fast den doppelten Effekt in der Produktion von Kohlendioxyd wahrnehmen.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Im | I. Falle | mit | Citronensäure | 1,01 | g | $CO_2$ |
| „ | I. „ | ohne | „ | 0,57 | „ | „ |
| „ | II. „ | mit | „ | 1,36 | „ | „ |
| „ | II. „ | ohne | „ | 0,60 | „ | „ |
| „ | III. „ | mit | „ | 1,03 | „ | „ |
| „ | III. „ | ohne | „ | 0,63 | „ | „ |

Tabelle II.

$CO_2$ ausgeatmet bei den Denitrifikationsvorgängen.

Temperatur 25° C.

| Tag | Gruppe I | | Gruppe II | | Gruppe III | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ungedüngt | | Gedüngt mit Stallmist | | Gedüngt mit Chilisalpeter | |
| | Komplette Giltaysche Lösung | Giltaysche Lösung ohne Citronensäure | Komplette Giltaysche Lösung | Giltaysche Lösung ohne Citronensäure | Komplette Giltaysche Lösung | Giltaysche Lösung ohne Citronensäure |
| | g | g | g | g | g | g |
| 1 | 0,0165 | 0,0253 | 0,0125 | 0,0199 | 0,0108 | 0,0181 |
| 2 | 0,0553 | 0,0239 | 0,0327 | 0,0442 | 0,0267 | 0,0161 |
| 3 | 0,0992 | 0,0222 | 0,0783 | 0,0280 | 0,1151 | 0,0142 |
| 4 | 0,0128 | 0,0429 (4–5) | 0,1417 | 0,0679 (4–5) | 0,1366 | 0,0383 (4–5) |
| 5 | 0,0994 (5–6) | | 0,2032 (5–6) | | 0,1212 (5–6) | |
| 6 | | 0,0577 | | 0,0500 | | 0,0789 |
| 7 | 0,1835 | 0,0816 | 0,2076 | 0,1251 | 0,1421 | 0,1109 |
| 8 | 0,1054 | 0,0560 | 0,1919 | 0,0537 | 0,1176 | 0,0634 |
| 9 | 0,0994 (9–10) | 0,0873 | 0,1103 (9–10) | 0,0299 | 0,0845 (9–10) | 0,0667 |
| 10 | | 0,0512 | | 0,0920 | | 0,0711 |
| 11 | 0,0478 | 0,0592 | 0,0707 | 0,0527 | 0,0260 | 0,0690 |
| 12 | 0,0601 | 0,0231 | 0,0913 (12–13) | 0,0472 | 0,1487 (12–13) | 0,0460 |
| 13 | 0,0674 | 0,0112 (13–14) | | 0,0112 (13–14) | | 0,0188 (13–14) |
| 14 | 0,0849 | | 0,1222 | | 0,1065 | |
| 15 | — | 0,0230 (15–16) | 0,1044 | 0,0197 (15–16) | — | 0,0122 (15–16) |
| 16 | — | | — | | — | |
| 17 | 0,080 | 0,0088 | — | 0,0112 | — | 0,0093 |
| | 1,01 | 0,5734 | 1,3668 | 0,6527 | 1,0358 | 0,6330 |

1) Stoklasa, Jul., Jelinek, Joh und Vitek, Eug., Der anaërobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen und seine Beziehung zur alkoholischen Gärung. (Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.) — Stoklasa, Jul. unter Mitwirkung von Černý, F., Jelinek, Joh., Šimáček, Eug. und Vítek, Eug., Alkoholische Gärung im Tierorganismus und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Tiergeweben. (Archiv f. d. gesamte Physiologie. Bd. CI. 1094.) — Dieselben: Ueber die aërobe Atmung der Tierorgane und über die Isolierung eines gärungserregenden Enzyms aus Tiergeweben. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1904.) — Weitere Arbeiten in dieser Richtung siehe Stoklasa, Jul., Archiv f. Hygiene. 1904 und Berl. Ber. 1903 bis inkl. 1905.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu interessanten Resultaten gelangten wir bei Beobachtung des Dissimilationseffektes der Denitrifikationsbakterien in humusreichen Böden, die in Giltay-Abersonsche Lösung ohne Glukose und Citronensäure gebracht wurden. Es wurden abermals 500 ccm Giltay-Abersonsche Lösung ohne Glukose und Citronensäure und 50 g Boden verwendet.

Die in Tabelle III zusammengestellten Daten sprechen sehr deutlich. Obschon die in das Nährmedium gebrachten Böden ungemein humusreich waren, so erscheinen die Formen dieser organischen Substanzen doch nicht als geeignetes Nährmaterial für die Entwickelung der Denitrifikationsbakterien.

Es wurden bei Nichtanwesenheit von Glukose und Citronensäure nach 30 Tagen gefunden:

im I. Falle 0,28 g $CO_2$
„ II. „ 0,32 „ „
„ III. „ 0,27 „ „

Um nachzuweisen, ob tatsächlich jene Formen der im Boden vertretenen organischen Substanzen ein schlechtes Material für die Dissimilationsprozesse der Denitrifikationsbakterien sind, stellten wir Versuche mit größeren Mengen der Böden an, in welchen Rübenbau intensiv betrieben wird; es waren dies namentlich Böden aus der Nimburger Gegend und aus dem Bezirk Kladno.

Wir gingen in folgender Weise vor:

I. Versuch: 9 kg Boden wurden mit destilliertem Wasser bei 60° C extrahiert und der Auszug (insgesamt 19 Liter) auf 1 Liter konzentriert. Derselbe enthielt in 1 Liter 2,2 g Kohlenstoff in Form organischer wasserlöslicher Substanzen.

600 ccm dieses Extraktes wurden in einen ca. 2 Liter fassenden Erlenmeyer-Kolben gebracht und versetzt mit

1,5 g Natriumnitrat
1,0 „ Dikaliumphosphat und
1,0 „ Magnesiumsulfat.

Tabelle III.

$CO_2$ ausgeatmet durch die Bakterien. Temperatur 25° C.

| Tag | Torfboden g | Humusreicher Boden g | Humusreicher Boden g |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,0245 | 0,0196 | 0,0235 |
| 2 | 0,0454 | 0,0075 | 0,0087 |
| 3 | 0,0077 | 0,0074 | 0,0094 |
| 4 | 0,0106 | 0,0099 | 0,0085 |
| 7 | 0,0083 | 0,0105 | 0,0172 |
| 9 | 0,0109 | 0,0139 | 0,0146 |
| 11 | 0,0127 | 0,0141 | 0,0112 |
| 14 | 0,0161 | 0,0166 | 0,0164 |
| 16 | 0,0110 | 0,0186 | 0,0143 |
| 18 | 0,0099 | 0,0159 | 0,0150 |
| 21 | 0,0159 | 0,0164 | 0,0176 |
| 22 | 0,0149 | 0,0209 | 0,0196 |
| 24 | 0,0103 | 0,0135 | 0,0147 |
| 28 | 0,0232 | 0,0242 | 0,0181 |
| 30 | 0,0664 | 0,1126 | 0,0660 |
| | 0,2878 | 0,3216 | 0,2748 |

Der Kolben samt Inhalt wurde einer 4-fachen Sterilisation unterworfen und nach Ablauf des Inkubationsstadiums mit der Lösung einer Kultur des Bact. Hartlebi geimpft, sodann im Thermostaten bei 28° C belassen.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der sehr energische, aktive (durch Parallelimpfung in Nährlösung geprüfte) Denitrifikant, Bact. Hartlebi, rief in der genannten Lösung keinerlei Gärung hervor und ebenso wurde der charakteristische Ueberzug auf der Oberfläche der Lösung nicht beobachtet.

Eine Nitratgärung trat nicht einmal nach 14 Tagen ein und desgleichen wurden keine Stickstoffverluste wahrgenommen.

II. Versuch: Es wurden 2,5 kg Boden dreimal mit destilliertem Wasser (insgesamt 15 Liter Wasser) extrahiert.

Der Extrakt wurde auf 160 ccm eingedampft und in 10 ccm der Kohlenstoff der organischen Substanzen (durch Oxydation mit Chromsäure) bestimmt. Dieser Extrakt enthielt in 1 Liter 2,55 g Kohlenstoff. Zu 150 ccm des Extraktes wurden zugesetzt:

0,5 g Natriumnitrat, enthaltend 0,08 g N,
2,5 g Calciumkarbonat.

Nach erfolgter Sterilisierung wurde die Lösung mit Bact. Hartlebi geimpft und im Thermostaten bei 28° C belassen. Selbst nach 6 Tagen kam keinerlei Gärung zum Vorschein.

Der Inhalt des Kolbens wurde auf 500 ccm verdünnt; in 200 ccm wurde der Stickstoff bestimmt und insgesamt 0,081 g davon auf die ursprüngliche Extraktmenge umgerechnet, vorgefunden. (Im ursprünglichen Extrakt waren nur Spuren von Stickstoff vorhanden und wir ließen ihn mit Rücksicht auf die bedeutende Menge des zugesetzten salpetersauren Salzes unberücksichtigt.)

Diese Versuche überzeugten uns neuerdings, daß die im Boden vertretenen organischen Substanzen ein schlechtes Material für die Denitrifikationsprozesse sind. Offenbar werden diese organischen Stoffe durch die Enzyme der Denitrifikationsbakterien nicht so leicht in Zersetzungsprodukte gespalten.

Es ist zu bemerken, daß bei allen unseren Versuchen, wo Nitratlösung mit Ackerboden gemischt wurde, immer die Bildung von salpetriger Säure zu konstatieren war.

Wenn wir die Denitrifikationsprozesse verfolgen, so werden wir finden, daß das intermediäre Produkt bei der Reduktion der Salpetersäure zu elementarem Stickstoff salpetrige Säure ist. Diese Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure bewirkt der Wasserstoff in statu nascendi, welcher zugleich mit dem Kohlendioxyd durch enzymatische Spaltung der Kohlenhydrate oder organischen Säuren entstanden ist.

Aus vorliegender Arbeit geht folgendes hervor:

Die in unseren Rübenböden enthaltenen organischen Substanzen sind keine vorteilhafte Kohlenstoffquelle für die Respirationsprozesse der Denitrifikationsmikroben und infolgedessen wird die Salpetersäure in diesen Böden nicht in solcher Intensität zu elementarem Stickstoff reduziert, um dies analytisch nachweisen zu können.

Bei starkem Luftzutritt, wie ein solcher bei ordentlicher mechanischer Bearbeitung des Bodens stattfindet, oder bei Böden mit genügender Luftkapazität, können Verluste an elementarem Stickstoff durch Denitrifikationsprozesse nicht entstehen, wohl aber aus den Nitraten sich immer Nitrite bilden.

---



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.

By **F. C. Harrison,**
Bacteriological Laboratories, The MacDonald College, Ste Anne de Bellevue, P. Q., Canada.

With 8 Plates from photographs and 1 table.

Several bacterial diseases of the potato are well known and a few of them have been accurately described, for example, E. F. Smith's Bacterial rot of the Tomato and Irish potato caused by B. solanacearum, and Appel's „Schwarzbeinigkeit", or potato stem rot, produced by B. phytophthorus. As a comprehensive review of the literature on this subject is given already by Dr. Appel in the „Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamte", it seems unnecessary to give a resumé in this publication.

It is unfortunate that there is some confusion with regard to the common or popular name used for describing this disease. Thus the terms "blight" and "rot" are often confused or used synonymously by farmers, and even trained observes make the same mistake, as, for example, in the following statement from the report of the Experimentalist of the Ontario Agricultural College, "The potatoes grown in the Experimental Department have been comparatively free from blight, although in some parts of the Province the rot has proven very troublesome in some seasons", and again in another place, "results show that there was less rot on the potatoes on which Bordeaux Mixture and Paris Green were used". In these statements there is a confusion between the disease produced by the fungus Phytophthora infestans, commonly termed blight, and the soft or wet rot caused by bacteria of several different species.

This confusion and inability to distinguish between the two types of disease gives rise to further errors. Thus, the Bordeaux Mixture has been used to combat the bacterial rot, and it has proved ineffective, some users of it have considered that the applications of it were not sufficiently numerous to be effective, or have discredited the mixture altogether, forgetting, or not knowing that a spray to be efficient must come into contact with the organism, which, in the case of the bacterial rots, affecting the interiors of stem and tubers, it is unable to do. Again quoting from the report of the Experimentalist we read, "The three applications each year of the Bordeaux Mixture were not sufficient to prevent all of the rot in any one of the three years, and that it is probable that if five or six applications had been made the Bordeaux Mixture would have had a greater influence". To fully understand the erroneous nature of these statements it is necessary to understand that the disease spoken of was the bacterial rot, as proved repeatedly by cultures and inoculations into sound potatoes, and also that the Assistant Biologist of the Station repeatedly examined the potatoes without finding any fungi present, — a statement that we can also confirm.

The Crop Bulletin of the Ontario Department of Agriculture for 1905 also makes similar mistakes with regard to this disease.

In order to lessen the chances of confusing the various diseases of the potato, with the consequent errors in treatment which a mistake

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in the diagnosis would make, this matter is here mentioned in some detail.

Geographical distribution. The bacterial rot of potatoes has been more or less prevalent in the province of Ontario during the years 1900—1905, inclusive, but it was particularly troublesome in 1904 and 1905, and diseased potatoes from the crops of these two years furnished us with the material with which this investigation deals.

The disease during the last two years was present throughout the Province of Ontario, we received reports of its presence in Nova Scotia, New Brunswick and Quebec, and in one case from the North West Territory. Considerable trouble was taken to ascertain if the disease in these more remote parts was identical with that in Ontario, and from the bacteriological results there could be no doubt that the rot was similar, the same causal organism being found in the diseased potatoes.

Bacterial rot of the potato has also been recorded in different parts of the United States, but on account of the lack of description it is impossible to say if the disease is the same as the one in which we are interested, or that described by E. F. Smith; hence nothing can be definitely stated with regard to the distribution of our disease in the United States. The symptoms of the Ontario disease somewhat resemble those described by O. Appel for the "Schwarzbeinigkeit", a disease which seems rather widespread in Germany. The British Board of Agriculture also believe that this stem rot disease is spreading in the United Kingdom and they have issued to farmers a leaflet describing the symptoms and methods of dealing with the disease. Two bacterial potato diseases are reported as being prevalent in France by Prillieux and Delacroix, but these are different from the Ontario disease. What in all probability is a bacterial rot, known as Bangle Blight, is also prevalent in India, the most characteristic symptoms of the disease being the blackened ring of vascular bundles in the tuber.

Tryon in Australia found that much damage was done to the potato crop by a bacterial blight which was probably similar to the one caused by Bacillus solanacearum (Smith).

Symptoms. In the majority of cases the first symptoms of the disease appear when the plants are in full vigor of growth, when on looking over a row of potatoes a plant here and there presents a sickly appearance, with drooping leaves, somewhat discolored or yellowed. In a few days the stems lose their erect appearance and gradually fall until they rest on the ground, when the whole of the stem and leaves gradually shrivel up.

When the leaves are turning yellow, black areas may be seen on the stems and petioles, and if these are cut through the fibro-vascular bundles and adjacent tissues will be found brown to black, depending on the progress of the disease. The stems are usually most discolored or blackened near the ground, but sometimes further up the stem. The leaves occasionally turn black in color without any previous yellowing.

The tubers, however, show the most characteristic indications of the disease: even when the plant appears in a fairly thrifty state, the tubers may be badly diseased, out of all proportion to the apparent vigor of the plant. At first sight, most of the potatoes appear sound, but on examination the skin over certain areas is found to be discolored, reddish brown in color, something like a bruise, with firm consistency,



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

but as the disease progresses the flesh beneath the dark portion becomes soft. There is a sharp line of demarcation between the healthy and diseased portions, frequently marked by a black line, the darker color being toward the sound part of the potato and gradually shading to a lighter brown color on the diseased portion. This is well shown in Fig. 12. On breaking the skin a white turbid liquid which may contain gas bubbles can be pressed out. The liquid rapidly turns black on exposure to the air. The skin over the affected portions easily peals away and the exposed flesh is watery and white but soon discolors in the air, becoming almost black. In later stages of the disease the flesh softens to a white watery pulp, and becomes highly offensive with a putrefactive, characteristic odor. In the final stages the potato becomes a mass of black soft pulp. Several modifications of these conditions may be noticed, thus the discoloration and blackening may be confined to only one portion of the tuber and at other times the whole of the tuber beneath the skin is softened and discolored with the centre portions quite sound. In some cases the most rotten tuber was the seed potato, in others the new potatoes. The rot seemed to extend from the one first infected to the rest, infection evidently caused by actual contact. If the potatoes are allowed to dry out, the tissues between the healthy and already softened portions undergo a corky modification. After the potatoes are dug, and the apparently sound ones are put in the cellar or pit, the disease continues to spread, and on cutting open affected potatoes they will be found with brown or blackened areas, such areas are not confined to the fibro-vascular ring, but may be of any size and in any portion of the potato, generally an end or side is affected, such potatoes present the appearance shown in Fig. 10.

Pathological Histology. The histological picture is a simple one, in the stems the bacteria first make their appearance in the vessels of the fibro-vascular bundle, and from thence invade the surrounding cells, dissolving the middle lamella, thus causing disintegration of the cells, and production of cavities. We find that the collenchymatous cells lying within the epidermis may be affected, however, before the vessels, in such cases there is a softened area, beneath the epidermis caused by the collapse of the cells, and from this situation the organism spreads very quickly both above and below. In inoculated plants the younger and more succulent tissues are more easily infected, and the disease spreads faster than in older and more woody portions of the stem.

In the potato tuber the action of the bacteria is first on the middle lamella of the cells, and in fresh made preparations of partially rotted tissues, free cells are abundant, showing the dissolving action of the enzymes of the bacteria on the cement substance or pectase layer of the cells. The inner lamella also swell slightly but not so much as in the cells of cauliflower affected with soft rot due to B. oleraceae. There is no evidence to show that the cellulose is acted upon, strips of pure Swedish filter paper kept in potato broth cultures of the organism were unaffected, although kept in the liquid for more than six weeks. Occasionally broken cells are seen, but it is doubtful if these are caused by the action of the bacillus.

Good sections of infected potato stems were difficult to obtain, partly on account of the uneven character of the soft and woody parts of the stem, and partly because the organism decolors very quickly when treated with alcohol, for this reason really good sections which

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

could be used for photographic purposes were hard to obtain, but for study of the relations of the organism and its host the faintly stained bacteria were easily seen.

Pathogenesis. a) Constant association of the organism named B. solanisaprus with the disease.

This organism has been repeatedly isolated in plate cultures from the diseased tubers, stems, and vascular bundles of the leaves of the potato. The bacillus was found in freshly infected tissue in practically pure cultures, and freshly made preparations, both stained and unstained, from diseased parts revealed the organism in huge numbers. Some fifty or sixty diseased potatoes and stems of some twenty varieties of potato grown in our experimental plots were examined, as well as potatoes from other localities in Ontario and from New Brunswick and the North West Provinces, the signs of disease in the tubers and the organisms present being the same in all cases.

In tuber which have completely rotted, or in advanced stages of the rot several species of bacteria were present, notably B. fluorescens liquefaciens, B. mycoides, B. subtilis, B. vulgatus and others.

These examinations extended over the two years 1904 and 1905, and thus the potatoes from two seasons' growth were found infected with the same disease caused by the bacillus here described.

b) The isolation of the organism named B. solanisaprus from the diseased tissues, and its morphological and biological characters in pure cultures in various media.

The isolation of the organism in pure cultures was quite easy as it grew well in all the standard media, and it has been repeatedly isolated in plate cultures from all diseased parts of the potato. Small pieces of tissue were taken out with a sterilised knife at the line between healthy and diseased tissue. These were transferred to tubes and broken up with a stiff sterilised needle, dilutions made and plates poured. In this manner the organism could be obtained in practically pure culture.

In case of isolations from the stems or leaves, the outer layers of cells were cut or scraped away with sterile knives and the inner or diseased portions removed to sterilised water, thoroughly ground up and transfers made to gelatine.

Recognition of the organism was comparatively easy, as the colonies were typical, and in all cases before starting any series of experiments a piece of raw potato in a test tube which had been proved to be sterile by previous incubation for several days at 25° C was inoculated with the organism and if a soft rot developed, in 18--24 hours at 20—25° C, it was a good indication of the pathogenicity of the organism. This test, however, was not exclusively relied on, as pains were taken to work out the biological character as thoroughly as possible, and with organisms obtained from different sources and from different varieties of potato. The results of these tests are given in detail and are not repeated in extenso under this heading (pathogenesis).

c) Production of the characteristics, signs and lesions of the disease by inoculation from pure cultures into healthy plants.

This has been accomplished many times by inoculation of pure cultures into the stems and tubers of healty plants.

Great care was taken to have absolutely healthy plants. As the field potatoes were so badly diseased it was deemed unadvisable to re-

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sort to field inoculation, and in the first series of inoculations potatoes were obtained from a source where no disease was present, then carefully examined, and planted in rotted turf soil which had never been used for potato or other field crop culture. The plants were kept in a greenhouse, watered and inspected daily.

Check plants kept under similar conditions and punctured at various places with sterilised needles remained healthy during the whole course of the investigation, whilst the plants inoculated with a pure culture of B. solanisaprus developed the characteristic signs of the disease already mentioned. Full details of these inoculations are given and Figs. 1, 2 and 3 show pictorially the results.

d) Discovery of the organism in the inoculated and diseased plants, re-isolation and growth in various media to prove that the particular bacillus was the organism which was inoculated.

This step was carried out with a number of diseased plants, numerous cultures were made which were compared with the original organism, and in nearly all cases proof of the identity of the bacillus isolated from inoculated plants was secured by its peculiar action in several culture media. (See under Biology.)

e) Production of certain signs of the disease by the inoculation of the chemical products (enzymes) of the growth of the bacillus.

After growing the microbe for some days in potato bouillon, the enzymes were precipitated by the usual methods, washed, dissolved and partitioned into sterile test tubes. Slices of fresh cut potato made with a sterile knife were placed in the tubes and the solvent action of the enzyme on the cement substances of the cells was quite marked. Small pieces of sterile raw potato covered with a layer of agar were softened when the top of the agar was smeared with a culture of the B. solanisaprus, the enzyme, but not the bacteria, diffusing through the layer of jelly.

Plant inoculations. Several series of potato and other plants were submitted to various kinds of inoculation, all plants unless otherwise mentioned were pot grown, the potatoes from tubers, in some cases obtained from places where the rot disease was not present, and in all cases carefully examined for disease, cut open and small pieces placed in the soil, or planted whole. The soil was obtained from well rotted turf mixed with sand, and no potatoes had been previously grown in it. The plants were grown and inoculated in a green house with a high glass roof, which in some measure, accounts for the height of the plants; they were watered when necessary.

The first series of six plants were inoculated by means of small punctures made with a platinum-iridium needle charged with a little of the growth from an agar culture, the eighth transfer since isolation from a diseased potato.

Plant 1. A number of terminal leaves were inoculated in the midrib, one puncture being made in each leaf. In three days, all leaves were drooping from the point of inoculation, the adjacent tissues were much softened and brown, the rot had spread 1 cm. above and below the point of inoculation. On the fifth day the rotted leaves began to dry out, and the disease made no more progress in this plant.

Plant 2. Petiole inoculation, one needle prick in each of five petioles. In three days the youngest petiole was softened and blackened,

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

but beginning on the fifth day it dried out; the other petioles were only slightly blackened and the disease made no further progress.

Plants 3, 4 and 5. The plants in each of these pots had from 3 to 5 stems, two of these in each pot were inoculated by means of punctures made with a needle infected with the potato rot culture. Only one prick was made in each stem, the remaining stems were punctured in many places with a sterile needle. As all three plants reacted in the same manner, the notes regarding one will suffice. In 2 days there was a noticeable blackening of the tissue at and around the sites of inoculation, the stems were brown or black, the discoloration was 15—20 mm. above and below and 4—5 mm wide, the leaves were wilting in the sunshine, although the soil was damp, and the controls (stems of the same plant with punctures made by sterile needle), were turgid. In three days the discolored tissue was softened to a pulp, and could be easily cut or removed with the platinum needle. In all infected shoots a lesser discoloration was seen extending about 5 cm. above and below the point of inoculation. This browning affected all tissues, but especially the vascular bundles. The shoots hat lost their rich dark green color and were much paler and yellowish. A few hours later the two shoots had fallen over. In four days the leaves on the affected shoots were flacid and yellowing, and quite lifeless, the controls were still healthy. The plant was then taken to the laboratory, and cut up, parts were imbedded and sectioned, and cultures made from portions of the affected dissue 5 cm from the point of inoculation. Cultures and subcultures in gelatin, raw potato, sugar media etc., showed the identity of the organism with that inoculated. Sections gave the histological picture already described.

Plant 6. Check plant. Midribs, petioles and stems punctured with a sterile needle in many places. The plant was kept beside those inoculated, remained perfectly healthy for several weeks, and retained its rich dark green color throughout the period of observation.

This series proved the pathogenicity of the organism isolated from the stems and tubers of potatoes affected with the rot, and showed that stem inoculations were more virulent than those in petioles and midribs. Check plants and uninoculated stems of infected plants remained healthy during the investigation.

Second series of eight plants, all healthy and well grown.

Plant 7. A single needle puncture was made in the stem between the second and third nodes from the apex. A platinum needle charged with a minute portion of growth from the sloped surface of a potato agar culture 24 hours old, kept ad 25° C, the tenth passage since isolation, was placed in the minute hole.

In 24 hours there was a large cavity, 15 × 55 × 5 mm with blackening of the tissues around the hole. In 2 days the cavity had increased in size, the blackened and softened area had extended, and the leaves above were wilting. In 3 days the hole was much larger, the blackened area 8 cm. long and had extended along the petiole of the leaf above the site of inoculation. The leaves above were wilted and drooping. In 4 days the top had completely fallen over, and the aerial portion of the plant gradually wilted and dried up.

(Continuation follows.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Der Einfluss der Wärme auf Insektenlarven.

Von **J. Dewitz.**

Vor mehreren Jahren war ich in der Station viticole et de Pathologie végétale in Villefranche (Rhône) damit beschäftigt[1]), die Temperaturen festzustellen, welche für die Raupen von Cochylis ambiguella und Tortrix pilleriana tödlich sind. Ich fand dabei, daß beide Raupenarten dem Einfluß von ungefähr derselben Temperatur erlagen, und daß diese Temperatur verhältnismäßig niedrig war, denn sie betrug nur 45° C. Die Wirkung dieser Wärmegrade bei einer Dauer von nur wenigen Minuten war eine sehr entschiedene. Zur Ausführung dieser Versuche diente mir eine einfache Vorrichtung. In einem mit Wasser gefüllten Ballon tauchte ein längeres Reagenzglas so tief ein, daß ein etwas größerer Abstand zwischen dem Boden des Reagenzglases und dem Boden des Ballons blieb. In dem Reagenzglase stand ein Thermometer und ein gegen das Ende des Reagenzglases vorgeschobener Wattepfropf schloß den unteren Teil des Reagenzglases zum Zwecke der Aufnahme der Raupe ab. Wenn sich das Quecksilber des Thermometers 45° C näherte, so fielen die Raupen auf den Boden. Ließ man sie da 10—15 Minuten bei derselben Temperatur, und nahm man sie dann heraus, so blieben sie tot oder sie waren sehr krank und starben nach einigen Tagen. Wiederholungen des Experimentes zeigten, daß die Wirkung der erhöhten Temperatur (45° C) eine sichere ist. Diese Befunde haben dann die Herren G. Gastine und V. Vermorel[2]) veranlaßt, meine Experimente für die erwachsenen Raupen von T. pilleriana aufzunehmen und den Einfluß erwärmter Luft auf dieselben zu beobachten. Sie machen für ihre Beobachtungen folgende Angaben: „Les pyrales [Raupen von T. pilleriana] exposées à une température de 48 à 50° meurent au bout de trois ou quatre minutes. Elles sont tuées bien au-dessous de ces températures, à 45° C si l'exposition dure plus longtemps, dix minutes. Vers 40° C elles s'agitent désespérément et sortent de leurs retraites[3]), ce qui assure mieux l'effet de la température destructive".

Da schon diese Versuche für das vitale Temperaturmaximum der C. ambiguella eine verhältnismäßig niedrige Temperatur erkennen lassen und in ihren Resultaten keine große Schwankungen aufweisen, und da es andererseits auffällig ist, daß für die Raupen zweier verschiedener Lepidopterenarten die tödlichen Temperaturen nahe beieinander liegen, so forderten diese Umstände zu weiteren Nachforschungen auf. Es liegt auf der Hand, daß auch im Freien Wärmegrade vorkommen können, welche jenen tödlichen Temperaturgraden gleichkommen oder sie gar übertreffen.

Die weiteren Versuche, welche von mir im letzten Sommer (1905) und im letzten Winter (1906) in der Königl. Preußischen Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Geisenheim a. Rh. angestellt worden sind, wurden in der Weise ausgeführt, daß die erwärmte Luft, in der sich die

---

1) Vergl. J. Dewitz, Beobachtungen, die Biologie der Traubenmotte Cochylis ambiguella Hübn. betreffend. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiologie. Bd. I (X). 1905. p. 344.)

2) Vermorel et Gastine, Note sur un nouveau procédé pour la destruction de la pyrale et d'autres insectes nuisibles. (C. R. Ac. Sc. Paris. T. CXXXV. 1902. p. 66—68. 7 juillet.)

3) Aus den zusammengesponnenen Blättern der Rebe. Die Reben wurden mit einer Zinkglocke bedeckt und in diese wurde heißer Wasserdampf geleitet.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsobjekte befanden, stets genügende Feuchtigkeit enthielt. Die Anordnung der Versuche war im Prinzip dieselbe wie in meinen früheren, oben angeführten Versuchen. Sie wurde aber öfters je nach dem Bedürfnis abgeändert.

## Wärmeexperimente.

### a) Junge Raupen von Eudemis botrana im Ei.

Es wurden zu diesen Versuchen Eier benutzt, welche in der Gefangenschaft auf Trauben von Schmetterlingen abgelegt worden waren, welche selbst in der Gefangenschaft ausgekommen waren. Man ließ die Eier sich so weit entwickeln, bis der schwarze Kopf der jungen Raupe sichtbar war. Dann wurde das Ei der Wirkung der Wärme ausgesetzt. Die erwärmten Eier, welche in der Entwickelung mehr oder minder vorgeschrittene Räupchen einschlossen, wurden nach dem Erwärmen genügend lange aufbewahrt, um festzustellen, ob die Räupchen zu Grunde gegangen oder am Leben geblieben waren und auskamen. Dazu wurden sie in kleine Schälchen gelegt, welche zugedeckt wurden und in denen sich ein Stückchen feuchtes Fließpapier befand. Auch in den späteren Versuchen, in denen kleinere oder größere Raupen erwärmt wurden, waren diese in gleicher Weise aufbewahrt. Es wurden ihnen außerdem einige Beeren oder Blätter in das Schälchen gelegt. Dieses Futter, auch die Beeren, wurde gewechselt und die Schälchen von Zeit zu Zeit gereinigt.

Die Resultate, welche die verschiedenen Experimente mit den jungen, noch im Ei eingeschlossenen Räupchen ergaben, lassen sich in folgender Weise zusammenfassen.

2 Raupen im Ei . . . . . . 22. Juli . . . . . . $\frac{40^{\circ}}{15\ m}$ l

3 „ „ „ . . . . . . 24. „ . . . . . . $\frac{40^{\circ}}{15\ m}$ l

1 Raupe „ „ . . . . . . 20. „ . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{9\ m}$ †

3 Raupen „ „ . . . . . . 20. „ . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{14\ m}$ †

1 Raupe „ „ . . . . . . 21. „ . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{15\ m}$ †

2 Raupen „ „ . . . . . . 20. „ . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{19\ m}$ †

Hierbei bedeutet l lebend, † tot. In den Brüchen drückt der Zähler die Anzahl der Wärmegrade, denen die Raupe ausgesetzt war, und der Nenner die Anzahl der Minuten aus, welche die Erwärmung dauerte. So gibt z. B. der Ausdruck $\frac{40^{\circ}}{15\ m}$ an, daß die Raupe 15 Minuten lang auf 40° erwärmt wurde.

### b) Bereits ausgekommene, mehr oder minder große Raupen von Cochylis ambiguella, Eudemis botrana und Phalera bucephala.

C. ambiguella (jung).

2 Raupen (3 mm; 2,5 mm) . . . . . . 28. Juli . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{10\ m}$ †

2 „ (2,5 „ 2,5 „ ) . . . . . . 28. „ . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{15\ m}$ †

C. ambiguella und E. botrana (jung).

2 Raupen (3 mm; 3 mm) . . . . . . 28. Juli . . . . . . $\frac{45^{\circ}}{5\ m}$ †

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

C. **ambiguella** (jung; die l werden nicht bis zur Verwandlung aufbewahrt).

2 Raupen (2,5 mm; 2,5 mm) . . . . . 28. Juli . . . . . $\frac{40^\circ}{10\ m}$ l

2 „ (2,5 „ 3,5 „ ) . . . . . 28. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{10\ m}$ l

2 „ (3 „ 3 „ ) . . . . . 29. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{10\ m}$ l

2 „ (3 „ 3 „ ) . . . . . 29. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{10\ m}$ l

2 „ (3 „ 3,5 „ ) . . . . . 29. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ †

3 „ (2,5 „ 2,5 „ ; 3,5 mm) . 28. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ nicht gänzlich †

2 „ (2 „ 3 „ ) . . . . . 29. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ 1 Raupe †; 1 Raupe l

2 „ (2,5 „ 2,5 „ ) . . . . . 29. „ . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ l

1 Raupe (4 „ ) . . . . . . . . . 28. „ . . . . . $\frac{45^\circ}{5\ m}$ †

3 Raupen (4 „ 4 „ 3 „ ) . 28. „ . . . . . $\frac{45^\circ}{5\ m}$ †

E. **botrana** (jung; dass.).

2 Raupen (3 mm; 3 mm) . . . . . . 1. August . . . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ l

2 „ (3,5 „ 3,5 „ ) . . . . . . 1. „ . . . . . . . $\frac{40^\circ}{15\ m}$ †

C. ambiguella (jung).

2 Raupen (3 mm; 4 mm) . . . . . . 2. August . . . . . . . $\frac{45^\circ}{5\ m}$ †

2 „ (2,5 „ 3,5 „ ) . . . . . . 2. „ . . . . . . . $\frac{45^\circ}{5\ m}$ †

3 „ (4 „ 4 „ ; 4 mm) . . 2. „ . . . . . . . $\frac{45^\circ}{5\ m}$ †

Ph. **bucephala** (die l werden aufbewahrt).

1 Raupe (klein) . . . . . . 10. August . . . . . . $\frac{40^\circ}{19\frac{1}{2}\ m}$ l

1 „ (kleinere) . . . . 14. „ . . . . . . . $\frac{40^\circ}{60\ m}$ l

2 Raupen (a) fast erwachsen; b) im Begriff sich zu verpuppen) 14. August $\frac{40^\circ}{60\ m}$ l;
a) später †; b) später verpuppt.

1 Raupe (klein) . . . . . . 10. August . . . . . . $\frac{45^\circ}{4\frac{1}{2}\ m}$ l; später †

1 „ (kleinere) . . . . 10. „ . . . . . . . $\frac{45^\circ}{9\frac{1}{2}\ m}$ †

1 „ (klein) . . . . . . 10. „ . . . . . . . $\frac{45^\circ}{15\ m}$ †

1 „ „ . . . . . . 10. „ . . . . . . . $\frac{45^\circ}{31\ m}$ †

C. ambiguella (groß; die l werden bis zur Verwandlung anfbewahrt).

3 Raupen 18. August $\frac{40^\circ}{20\ m}$ l; später 1 Raupe †, 1 Raupe ∽ [1]), 1 Raupe verpuppt

3 „ 18. „ $\frac{40^\circ}{45\ m}$ l; später 3 Raupen †

5 „ 18. „ $\frac{40^\circ}{47\ m}$ l; später 2 Puppen, 3 Raupen †

---

1) Ist infolge der Fäulnis der Beere †.

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 4 Raupen | 18. | „ | $\frac{45^{\circ}}{1\ m}$ | 1 Raupe †, die übrigen 3 Raupen l; später 2 Raupen †, 1 Puppe |
| 4 „ | 18. | „ | $\frac{45^{\circ}}{2\ m}$ | l; später 4 Raupen † |
| 5 „ | 21. | „ | $\frac{45^{\circ}}{2\ m}$ | 3 Raupen l, 2 Raupen †; später 2 Raupen †, 1 Puppe |
| 5 „ | 19. | „ | $\frac{45^{\circ}}{5\ m}$ | 1 Raupe l, 4 Raupen †; später 1 Raupe † |
| 5 „ | 19. | „ | $\frac{45^{\circ}}{10\ m}$ | † |

Die Ergebnisse dieser Experimente lassen sich in folgender Weise zusammenfassen.

Was die noch im Ei befindlichen Raupen von E. botrana, die kleinen Raupen von E. botrana und von C. ambiguella angeht, so werden dieselben bei 45° und den angewandten Expositionszeiten (5, 9, 10, 14, 15, 19 m) sämtlich getötet. Für 40° war bei 10 m keine Sterblichkeit zu verzeichnen. Bei 15 m blieben am Leben die noch im Ei befindlichen Raupen von E. botrana und die jungen Raupen von E. botrana. Die jungen C. ambiguella-Raupen gingen bei 15 m teils zu Grunde, teils blieben sie am Leben. Die Experimente waren in dieser Hinsicht nicht zahlreich genug, um bestimmt sagen zu können, ob solche Unterschiede durch die Größe, das Alter der Raupen veranlaßt worden waren.

Die großen Raupen von C. ambiguella wurden in der Zeit um den 20. August behandelt, d. h. zu einer Zeit, wo sie fast erwachsen waren, denn gegen Ende August fingen sie bereits an, die Trauben zu verlassen. Bei 40° und 20, 45, 47 m hatten sie anfangs mehr oder minder gelitten, erholten sich aber am nächsten Tage. Die unter diesen Verhältnissen erwärmten 11 Raupen zusammen gaben aber schließlich nur 3 Puppen. Bei 45° und 1, 2, 5, 10 m hatte bei den niedrigen Werten von m (1 m, 2 m) die Temperatur teils einen tödlichen, teils einen am Anfang nicht tödlichen Einfluß. Bei 5 m war der tödliche Einfluß bereits überwiegend und bei 10 m gingen alle Individuen zu Grunde. Die 23 auf 45° erwärmten Raupen gaben nur 2 Puppen, welche aber auf 1 und 2 m fielen.

Es wurden ferner 8 Ph. bucephala-Raupen erwärmt. Die 4 auf 40° erwärmten Raupen sind selbst bei 60 m anfangs alle am Leben geblieben und nur ein auf $\frac{40^{\circ}}{60\ m}$ erwärmtes Exemplar ist später gestorben. Bei 45° und $4^1/_2$ und $9^1/_2$ m erholten sich die Raupen anfangs, gingen dann aber in 1 und 6 Tagen zu Grunde. Bei 45° und 15 und 13 m reagierten sie teils anfangs noch auf Berührung, teils waren sie schon sogleich tot. Es ist bemerkenswert, daß der Organismus derjenigen Ph. bucephala-Raupen, welche bei 40° $\left(\frac{40^{\circ}}{60\ m}\right)$ oder 45° anfangs vollständig wieder hergestellt erschienen, aber später starben, dem äußeren Anschein entgegen doch so tief gehende Veränderungen erfahren hatte, daß die Raupen keine Nahrung berührten.

## Die Veränderungen, welche der Organismus der Raupen unter dem Einfluß der Wärme erleidet.

Die Resultate dieser an drei Raupenarten und an verschiedenen Entwickelungsstadien der Raupen angestellten Versuche stimmen gut zu

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den eingangs erwähnten, für C. ambiguella und T. pilleriana erhaltenen Resultaten. Ich glaube daher, aus allen diesen Beobachtungen schließen zu dürfen, daß die für die Lepidopterenraupen verschiedener Art tödliche Wärme zwischen 40° und 45° C liegt. Bei der Einwirkung von 45° bedarf es einer nur geringen Expositionszeit, um die Tiere abzutöten. Erwärmen auf 40° vermag selbst bei 60 m nicht immer ein solches Resultat herbeizuführen. Es scheint mir nun die Annahme berechtigt, daß die zwischen 40° und 45° liegenden Temperaturgrade im Organismus der Raupe tiefgreifende Veränderungen bewirken. Da nun aber in diesen Versuchen dafür gesorgt war, daß sich die Versuchsobjekte in einer Atmosphäre mit genügender Feuchtigkeit befanden, so kann man annehmen, daß diese Veränderungen durch Wärme allein veranlaßt wurden. Es fällt dabei auf, daß diese für die Raupen tödlichen Temperaturgrade verhältnismäßig niedrig sind. Was nun die Bestandteile des Raupenkörpers angeht, welche durch die Wärme leiden, so kann man an verschiedene Dinge denken. Mich haben meine früheren Untersuchungen [1]) über die Blutflüssigkeit der Insektenlarven mein Augenmerk auf diese richten lassen, und ich wollte zusehen, ob man in der Blutflüssigkeit von Raupen, welche jenen Wärmegraden ausgesetzt waren, Veränderungen konstatieren könnte.

Das Blut sowie einige andere Gewebsteile der Insektenlarven und Insektenpuppen hat die Eigentümlichkeit, sich an der Luft zu bräunen oder zu schwärzen. Diese Farbenveränderung wird durch die Gegenwart eines oxydierenden Enzyms, einer Oxydase, veranlaßt. Schon Krukenberg wußte dieses in den 80er Jahren, wie er an verschiedenen Stellen seiner Arbeiten ausführt, und in neuerer Zeit haben O. v. Fürth und H. Schneider [2]) das in der Blutflüssigkeit der Insektenlarven und Insektenpuppen enthaltene Enzym als Tyrosinase charakterisiert. Dieses Enzym wurde von Bertrand in gewissen Pflanzen gefunden, bei denen es durch Oxydierung des Tyrosins die Dunkelfärbung der Säfte der Pflanzen an der Luft bewirkt. Ich selbst [3]) hatte zu zeigen unternommen, daß dieses oxydierende Enzym einerseits mit der Verfärbung frisch gebildeter Puppen und andererseits mit dem Verwandlungsprozeß in Beziehung steht. Diejenigen Agentien, welche der Wirkung des Enzyms bei der Verfärbung des Blutes und der anderen Gewebsflüssigkeiten und bei der Verfärbung der frisch gebildeten Puppen hinderlich sind, sind dieses auch der Verwandlung selbst.

Ich hielt es nun für interessant nachzusehen, ob die Verfärbung der Blutflüssigkeit von den auf die obigen Temperaturen erwärmten Raupen durch die Wärme ungünstig beeinflußt werde. Bei diesem Punkte meiner Untersuchungen angelangt, hatte mittlerweile leider der Herbst und mit ihm die Verwandlung der Raupen (Sauerwürmer) der C. ambiguella begonnen. Aber die wenigen Experimente, welche ich in dieser Hinsicht noch machen konnte, ließen schon erkennen, daß das Blut und die Gewebsflüssigkeiten der bei der Tötungstemperatur zu Grunde gegangenen Sauerwürmer gelitten hatten. Um dieses zu zeigen, wurden die Sauerwürmer auf verschiedene Tem-

1) Die verschiedenen Veröffentlichungen sind zitiert in Zoolog. Anz. Bd. XXVIII. 1904. p. 166 und Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1905. Suppl. p. 389.

2) O. v. Fürth und H. Schneider, Ueber tierische Tyrosinasen und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung. (Beitr. f. chem. Physiol. u. Pathol. (Hofmeister). Bd. I. Heft 5/6. p. 227—242.)

3) Vergl. Anm. 1.

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

peraturgrade bei Gegenwart von genügender Feuchtigkeit erwärmt und dann in etwas destilliertem Wasser zerrieben. In jenen Versuchen sah man, daß bei Temperaturen von $\frac{45^0}{25\ m}$ und $\frac{45^0}{30\ m}$, bei denen die Raupen abgetötet werden, auch die zerriebene Masse sich nicht verfärbte[1]); daß aber das Erwärmen auf $\frac{35^0}{35\ m}$, $\frac{39^0}{25\ m}$, $\frac{40^0}{35\ m}$ noch nicht genügte, um dieses Resultat herbeizuführen[2]).

---

Da die Jahreszeit meinen Versuchen mit den Sauerwürmern ein vorzeitiges Ziel gesetzt hatte, so kehrte ich im Winter dieses Jahres (1905/6) zu meinem alten Untersuchungsobjekt, den Fliegenmaden, zurück, um größere Sicherheit in diese soeben erwähnten Befunde zu bringen. Diese Larven gehörten der Art Musca erythrocephala an. Um sie im Winter in diesem nordischen Klima zu haben, ließ ich mir von der französischen Riviera Eier schicken, die ich dann in der Station in der gewöhnlichen Weise mit Fleisch aufzog. Die meisten zu meinen Versuchen benutzten Larven stammten von ein und derselben Zucht. Es wurden zu den Versuchen nur erwachsene Larven, d. h. solche Larven benutzt, welche aufgehört hatten zu fressen und in den Sand gegangen waren. Diese erwachsenen Tiere konnte ich in der Weise einen Monat im Larvenzustande erhalten, daß ich sie in ein größeres Gefäß mit feuchtem Flußsand legte und dieses Gefäß in einem ungeheizten Zimmer mit geschlossenen Läden auf das Fenster zwischen Fensterläden und Glasscheibe setzte. Ich habe schon früher zu erwähnen Gelegenheit gehabt, daß die Kälte ein gutes Mittel ist, um die Verwandlung der Fliegenmaden zu verhindern. In allen Fällen standen aber die zu benutzenden Larven erst eine Anzahl von Stunden im warmen Zimmer, ehe sie zu den Versuchen verwandt wurden.

Um die Fliegenmaden zu erwärmen, wurden sie in einem offenen Reagenzglase den verschiedenen Wärmegraden ausgesetzt. In einem großen, mit Wasser gefüllten Becherglase hing ein kleiner, ebenfalls mit Wasser gefüllter Erlenmeyerscher Kolben in der Weise, daß man auf das Becherglas ein Brettchen gelegt und in einen in diesem befindlichen breiten Schlitz den Hals des Kolbens eingeführt hatte. In den Kolben wurde das die Larven aufnehmende Reagenzglas gestellt. Dieses war, wie früher, durch ein Stück Blei beschwert. Auf das Bleistück wurde ein dicker Pfropf aus feuchtem Fließpapier geschoben und in das Reagenzglas ein Thermometer gestellt. Die Larven wurden dann in das Reagenzglas geworfen, das in allen Fällen ganz unverschlossen blieb. Zum Erwärmen des Wassers dienten auf Oel schwimmende Nachtlichte. Es hat sich für die Einstellung der Temperaturgrade als zweckmäßig erwiesen, das Reagenzglas aus dem Kolben mehr herauszuziehen oder tiefer in den Kolben zu senken. Man klemmt dann das Reagenzglas in der gefundenen Höhe mit einem zugeschnittenen Hölzchen fest. Die Erwärmung geht in dieser Weise schnell von statten, bedarf aber einer beständigen und aufmerksamen Ueberwachung. Die gewünschten Temperaturgrade erhielt man fast sogleich nach dem Hineinwerfen der Larven in das Reagenzglas.

---

1) Auf den auf Fließpapier hervorgebrachten Blutflecken war die Verfärbung nur angedeutet. Vergl. über diesen Gegenstand weiter unten.

2) Diese Versuche sind bereits erwähnt in Arch. f. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1905. Suppl. p. 398—399.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In den oben mitgeteilten Versuchen, in denen es sich um die Erwärmung von Lepidopterenlarven handelte, war das Reagenzglas meist verschlossen und nur in einigen Fällen blieb es offen. Verschlossen wurde es entweder mit einem Wattepfropf oder mit einem losen Pfropf aus feuchtem Fließpapier und in einigen wenigen Fällen mit einem durchbohrten Kork, durch dessen Oeffnung das Thermometer geschoben war.

Bei der Erwärmung der Fliegenlarven handelte es sich auf der einen Seite um den Einfluß der Wärme auf das Leben der Larven (a) und auf der anderen Seite um den Einfluß der Wärme auf die Verfärbbarkeit des Blutes (b) und schließlich auf die weiteren Schicksale der Larven (c).

### a) Einfluß der Wärme auf das Leben der Larven.

Versuch 9—12. 25. Jan. (1906). Je zwei Larven werden auf $\frac{47^0}{15\ m}$ erwärmt. Auf Reiz keine Reaktion. 26. Jan. dass.

Versuch 13—17. 26. Jan. Erwärmung $\frac{45^0}{15\ m}$ leblos. 28. Jan. dass.

Die Larven der Versuche 9—12, 13—17 und 18—20 stammten aus derselben Zucht wie die Larven der weiter unten stehenden Versuche 21—40a. Für die fünf folgenden Versuche 44—48 wurden Larven aus einer anderen späteren Zucht benutzt.

Versuch 44. 6. Febr. 3 Larven $\frac{44^0}{20\ m}$ leblos. 7. Febr. dass.

Versuch 45. 6. Febr. 3 Larven $\frac{44^0}{15\ m}$ leblos. 7. Febr. dass.

Versuch 46. 6. Febr. 3 Larven $\frac{43^0}{15\ m}$. 1 Larve reagiert deutlich, eine sehr schwach, eine ist leblos. 7. Febr. Die Reaktionen sind deutlicher.

Versuch 47. 6. Febr. 3 Larven $\frac{43^0}{15\ m}$. 2 Larven reagieren deutlich, 1 Larve reagiert sehr schwach. 7. Febr. Die Reaktionen sind deutlicher.

Versuch 48. 6. Febr. 3 Larven $\frac{43^0}{15\ m}$. 1 Larve reagiert sehr schwach, 2 Larven leblos. 7. Febr. Die Reaktionen sind deutlicher.

Versuch 18—19. 29. Jan. Je 2 Larven $\frac{41^0}{20\ m}$. Reagieren kräftig, kriechen aber erst am folgenden Tage.

Versuch 20. 30. Jan. 2 Larven $\frac{41^0}{20\ m}$. Dass.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Larven bei 41⁰ Wärme und 20 Minuten Dauer am Leben bleiben. Bei den unten (c) aufgeführten Versuchen 21—40a ist dieses noch bei einer viel längeren Expositionen der Fall. Andererseits liegt ein Erwärmen auf $\frac{43^0}{15\ m}$ bereits auf der Grenze der Abtötungstemperatur. Es ist nun interessant, mit den obigen Temperaturgraden diejenigen zu vergleichen, welche die Fähigkeit des Blutes sich zu verfärben aufzuheben bezw. abzuschwächen imstande sind (b).

### b) Einfluß der Wärme auf die Verfärbbarkeit des Blutes.

Zur Untersuchung der Verfärbbarkeit des Blutes vorher erwärmter Larven benutzte ich folgende Methode. Die Haut der Larven wurde in einiger Entfernung vom Kopfende mit einem flachen Scherenschnitt, ohne daß man innere Organe verletzte, angeschnitten. Den aus der Wunde hervorquellenden Tropfen Blut ließ ich darauf auf einen kurzen Streifen Fließpapier fallen. Wenn der Tropfen gut eingesogen war und einen runden Fleck bildete, ließ ich auf ihn 1—2 Tropfen gewöhnliches Wasser

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

fallen. Oder es wurde zuerst das eine und darauf das andere Ende des Streifens in Wasser getaucht, das sich über den Blutfleck hinzog. Dann wurden die Enden des Papierstreifens mit der Pincette umgebogen und der Streifen in eine zugedeckte Petri-Schale gestellt, in der sich angefeuchtetes Fließpapier befand, um die Luft feucht zu erhalten. Es bedarf keiner weiteren Ausführung, daß die Instrumente (Schere, Pincette) nach dem jedesmaligen Gebrauch durch Erhitzen in der Flamme sterilisiert wurden.

Wenn man Bluttropfen von normalen, vorher nicht erwärmten Larven in dieser Weise auf Fließpapier bringt und anfeuchtet, so wird der Blutfleck sehr bald dunkel. Er bleibt aber mehr grau mit einem Stich in das Olivenbraune, während die Flecken der vorher gewärmten Larven dunkler und schwärzer werden. Er ist ferner niemals wie die letzteren anfangs rot oder rosa, sondern sofort dunkel. Nach Gessard[1]) steht nun zwar das auf die Rotfärbung folgende Schwarzwerden von tyrosinhaltigen Flüssigkeiten unter Einfluß der Tyrosinase und der schließlich sich einstellende feine schwarze Niederschlag nicht mehr mit der Wirkung des Enzyms in Zusammenhang, sondern hängt nur von der Gegenwart gewisser Salze ab. Man kann sich aber angesichts der hier folgenden Wärmeversuche der Ansicht nicht verschließen, daß in der Blutflüssigkeit der erwärmten Larven eine Veränderung vor sich gegangen sein muß. Bei nicht erwärmten Larven wird der Fleck sogleich schwarz (dunkel), bei erwärmten Larven wird er zuerst rot und dann erst schwarz, bei mäßig erwärmten Larven streiten sich diese beiden Erscheinungen um den Vortritt. In dem ersten Falle folgen sich die verschiedenen Stadien des Vorganges so schnell, daß das rote Stadium für unser Auge gänzlich unterdrückt ist. Man kann daher glauben, daß auch die Anfangswirkung des Enzyms eine viel energischere ist als in dem zweiten Falle. Bei den Larven von Lucilia caesar ist im Sommer die Wirkung des Enzyms eine sehr kräftige und auch hier wird die Masse der mit etwas Wasser zerriebenen Larven sogleich schwarz, ohne erst durch Rot zu gehen. „Um die Erscheinung des Schwarzwerdens der Gewebeflüssigkeit (Blut) der Fliegenlarven zu zeigen, bedient man sich am besten während des Sommers (Ende Juni, Juli) der reifen Larven von Lucilia." „Zerreibt man eine Anzahl dieser ausgewachsenen Larven in einem Porzellanmörser mit etwas destilliertem Wasser, so färbt sich der Brei in wenigen Minuten und wird in kürzester Zeit schwarz wie Tinte. Die Verfärbung tritt so schnell auf, daß, wenn man mit der noch ungefärbten Masse zu operieren wünscht, man sich beeilen muß, damit sie sich nicht schon zu schwärzen anfängt, ehe man die nötigen Reagentien u. s. w. hinzugefügt hat." „Die Breiflüssigkeit von Lucilia färbt sich viel schneller als die anderer Arten (Musca vomitoria, Carinaria), bei denen erst längere Zeit vergeht, ehe sie anfängt, die Farbe zu wechseln. Sie erhält bei diesen Arten zuerst einen rötlichen Schein und wird darauf stärker rot. Aber erst nach mehreren Stunden ist die Farbe schwarzbraun oder schwarz." „Aber auch bei der Breiflüssigkeit von Lucilia kann man den anfänglich rötlichen Farbenton herbeiführen, wenn man zu der verriebenen Larvenmasse viel destilliertes Wasser setzt. Unter diesen Verhältnissen wird die Flüssigkeit zuerst rotbraun, dann schwärzlich und schließlich schwarz wie Tinte[2])."

---

1) Gessard, C., Sur la tyrosinase. (C. R. Ac. Sc. Paris. T. CXXX. 1900. p. 1327—1330.)

2) Dewitz, J., Weitere Mitteilungen zu meinen „Untersuchungen über die Verwandlung der Insektenlarven". (Arch. f. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1902. p. 425—442.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ließe sich schließlich auch denken, und diese Ansicht hat nach den mitgeteilten Einzelheiten viel für sich, daß infolge der Erwärmung das Medium, in dem sich das Enzym befindet, d. h. die Blutflüssigkeit, in physikalischer Hinsicht eine Aenderung erfährt, und daß diese die Aenderung in der Verfärbung veranlaßt.

Man könnte bei den vorliegenden Erwärmungsversuchen auf den Gedanken kommen, daß in dem Blute der erwärmten Larven das Chromogen, auf das das Enzym wirkt und das sich unter Einfluß dieses oxydierenden Enzyms verfärbt, eine Aenderung erfahren hat. Ich habe daher in verschiedenen Versuchen den Streifen Fließpapier zuerst mit einer Tyrosinlösung angefeuchtet, ehe ich den Bluttropfen auf ihn fallen ließ. Aber auch in diesen Versuchen wurde das Blut der vorher erwärmten Larven anfangs rot.

Es wurden nun (2. Febr.) in verschiedenen Versuchen je 3 Larven, welche einige Tage vorher das Fressen eingestellt hatten und in den Sand gegangen waren, auf $\frac{50^0}{15\ \text{m}}$ und auf $\frac{51^0}{15\ \text{m}}$ erwärmt. Bei $\frac{50^0}{15\ \text{m}}$ stellte sich nach einiger Zeit an einigen Stellen der Peripherie des Blutfleckes eine ganz außerordentlich geringe Rötung ein. Die Schwärzung war dann später hier nur ganz schwach angedeutet. Beim Erwärmen auf $\frac{51^0}{15\ \text{m}}$ war die Rötung und darauf die Schwärzung auch nur kaum angedeutet. Es wurden darauf [2. Febr. 5 h p. m.[1])] 3 Larven auf $\frac{51^0}{15\ \text{m}}$ erwärmt und in einer zugedeckten Petrie-Schale bei Gegenwart von angefeuchtetem Fließpapier bis zum 3. Febr. $8^{30}$ h a. m.[2]) aufbewahrt. Sie wurden dann angeschnitten und das Blut nach der obigen Methode auf Fließpapier fallen gelassen. Die 3 Blutflecken färbten sich jetzt bald sehr kräftig ziegelrot und dann tiefschwarz. Aus diesen Versuchen und aus früheren, welche mir dasselbe Resultat gegeben hatten, muß man folgern, daß das Verfärbungsvermögen des Blutes durch die Erwärmung vernichtet war; sich dann aber wieder einstellte, indem die Gewebe der Larve dazu wieder die nötigen Substanzen lieferten. Es könnte auch unter dem Einfluß der Wärme der Organismus entgegenwirkende Flüssigkeiten sezernieren, deren Wirkung später aufhört.

Es wurden ferner 3mal je 3 Larven auf $\frac{49^0}{15\ \text{m}}$ erwärmt. Man schnitt je 2 an. Jetzt war die Rotfärbung der Blutflecken und die darauf folgende Schwärzung schon deutlicher, aber noch immer sehr schwach. Die drei übrig gebliebenen Larven wurden vom 6. Febr. 2—3 h p. m. bis zum 7. Febr. 8 h a. m. aufbewahrt und dann erst angeschnitten. Jetzt färbte sich der Blutfleck ebenso wie in dem vorigen Versuche schon bald intensiv ziegelrot und wurde später tiefschwarz. Der Unterschied zwischen diesen Blutflecken und denen, welche von sogleich angeschnittenen Larven stammten, war ein gewaltiger. Die obigen Beobachtungen finden hier also ihre Bestätigung. Aehnliche Verhältnisse scheinen bei stärkerer Abkühlung von Larven statt zu haben. Ich habe schon früher einige Beobachtungen über den Einfluß der Kälte auf die

1) = 5 Uhr nachmittags.
2) = 8 Uhr 30 vormittags.

Generated on 2019-09-21 14:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

hier behandelten Vorgänge gemacht. Mir fehlte aber jetzt die Zeit dazu, sie weiterzuführen.

In verschiedenen Versuchen wurden je 3 Larven, welche mehrere Tage vorher das Fressen eingestellt hatten, auf $\frac{47^0}{15\ \mathrm{m}}$ erwärmt. Die Verfärbung war durch die Erwärmung nicht vernichtet. Aber in allen Proben wurde der Blutfleck zuerst ziegelrot, um sich dann zu schwärzen. Außerdem fiel die Verfärbung ungleich aus, und man sah, daß das Verfärbungsvermögen geschädigt war. Dabei war es auffallend, daß, wenn man die 3 Larven aus der Wärme herausgenommen hatte, bei der zuerst angeschnittenen Larve, besonders wenn man sehr schnell verfuhr und zwischen dem Verlassen der Wärme und dem Anschneiden möglichst wenig Zeit verfloß, das Verfärbungsvermögen sehr oft mehr geschädigt war als bei den anderen Larven. Es kann diese Erscheinung vielleicht auf die obige zurückgeführt werden, welche sich an den aufbewahrten Larven zeigte.

Es wurden in 4 Fällen (7. und 8. Febr.) je 3 Larven von solchen, welche das Fressen eingestellt hatten und sich seit einiger Zeit schon im Sand befanden, auf $\frac{45^0}{15\ \mathrm{m}}$ erwärmt. Die Blutflecken wurden in allen Fällen zuerst rot, ehe sie die schwarze Farbe annahmen.

4 mal (7. und 8. Febr.) wurden je drei ebensolche Larven auf $\frac{43^0}{15\ \mathrm{m}}$ erwärmt. Bei den ersten 2 Versuchen wurde ein Blutfleck zuerst rot, ein anderer schwarz und wieder ein anderer fast gleichzeitig hier und da rot und in den übrigen Teilen schwarz. Im dritten Versuch trat auf 2 Flecken für einen Moment an einigen Stellen undeutliches Rosa auf, das sogleich in Schwarzviolett überging, während die übrigen Teile der Flecken sogleich diese Farbe erhielten. Ein Fleck wurde aber sogleich schwarzviolett, ohne vorher irgendwelche Andeutung von Rosa gezeigt zu haben. Im vierten Versuche wurden 2 Blutflecken zuerst zartrosa. Diese Farbe ging aber schnell in Schwarzviolett über. Bei einem Fleck hielt das Rot länger an, ehe es schwarzviolett wurde. Bei der Erwärmung auf $\frac{43^0}{15\ \mathrm{m}}$ ist das Verfärbungsvermögen schon, aber nur verhältnismäßig wenig geschwächt. Bald färben sich die Blutflecken für einen Augenblick erst rot, bald schwarz, bald treten beide Farben zugleieh auf. Die Erwärmung auf $\frac{43^0}{15\ \mathrm{m}}$ war aber als Abtötungstemperatur (vergl. a) ebenso unentschieden.

Schließlich wurde noch in je 1 Fall der Erwärmung auf $\frac{41^0}{15\ \mathrm{m}}$ und $\frac{40^0}{15\ \mathrm{m}}$ auf die Verfärbbarkeit der Blutflecken untersucht (9. Febr.), wozu je 3 Stück der gleichen Larven benutzt wurden.

$\frac{41^0}{15\ \mathrm{m}}$. 3 Larven erwärmt. Reaktion der Larven nach dem Erwärmen deutlich. Ein Blutfleck wird rosa. Die Farbe geht sogleich in Violett über, aber derart, daß schwarzviolette und rosa Stellen gemischt sind. Darauf wird der Fleck ganz schwarz. Ein Fleck wird mattrosa. Die Farbe geht sogleich in Schwarzviolett und später in Schwarz über. Ein Blutfleck wird sogleich grau.



Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

$\frac{40^\circ}{15\text{ m}}$. 3 Larven erwärmt. Die Larven sind nach dem Erwärmen durchaus lebendig. Ein Blutfleck zeigt für einen Augenblick ein Gemisch von Schwarzviolett und Rosa. Dieses letztere geht sogleich in Schwarzviolett über. Bei 2 Flecken ist der ganze Fleck zuerst blaßrosa, dann sogleich schwarzviolett. Die Flecken sind schließlich schwärzer, als die Blutflecken von nicht gewärmten Larven werden.

Wie aus diesen beiden letzten Versuchen hervorgeht, sind schon bei so niedrigeren Erwärmungen wie $\frac{40^\circ}{15\text{ m}}$ und $\frac{41^\circ}{15\text{ m}}$ Anfänge von Veränderungen im Blut zu konstatieren.

Einfluß der Erwärmung

| auf die Lebensfähigkeit der Larven | | auf die Verfärbbarkeit des Blutes | |
|---|---|---|---|
| | | $\frac{51^\circ}{15\text{ m}}$ | Verfärbung kaum vorhanden |
| | | $\frac{50^\circ}{15\text{ m}}$ | dass. |
| | | $\frac{49^\circ}{15\text{ m}}$ | sehr schwach. |
| $\frac{47^\circ}{15\text{ m}}$ | tot . . . . . . . . . . . . . . . . | $\frac{47^\circ}{15\text{ m}}$ | vorhanden, geht noch durch Rot hindurch. |
| $\frac{45^\circ}{15\text{ m}}$ | tot . . . . . . . . . . . . . . . . | $\frac{45^\circ}{15\text{ m}}$ | Verfärbung; geht noch durch Rot hindurch. |
| $\frac{43^\circ}{15\text{ m}}$ | äußerste Grenze des Widerstandes gegen die Wärme . . . . . . . . | $\frac{43^\circ}{15\text{ m}}$, $\frac{41^\circ}{15\text{ m}}$, $\frac{40^\circ}{15\text{ m}}$ | das rote oder rosa Stadium oft gar nicht vorhanden oder zeitlich und räumlich sehr beschränkt oder Mischung von roten und schwarzen Stellen auf dem Blutfleck. Sehr schnelles Schwarzwerden des ganzen Blutflecks. |
| $\frac{41^\circ}{20\text{ m}}$ | kräftige Reaktion nach dem Erwärmen | | |
| | Ueber Versuche mit 39—41° und 30—45 m vergl. c) Einfluß der Wärme auf die weiteren Schicksale der Larve . . . . | | |

## c) Einfluß der Wärme auf die weiteren Schicksale der Larven.

Die zu allen diesen Versuchen (21—40 a) benutzten Larven stammten aus derselben Zucht. Die Larven standen im Dunkeln und Kalten.

(Siehe Tabelle p. 51.)

Es ist zu diesen Versuchen noch zu bemerken, daß die Larven, welche nicht mehr auf Reiz reagieren, meist schmutzig gelb oder schmutzig braun sind und oft im Innern schwarze, durch die Körperhaut hindurchscheinende Stellen haben. Die Larven können aber noch Zeichen von Leben von sich geben, wenn sich diese Erscheinungen einstellen. Interessant war es, daß eine Larve infolge des Erwärmens hellbräunlich geworden war und dabei doch lebte und umherkroch. Ich habe früher[1] 2 Larven erhalten, die sich bewegten und trotzdem eine schokoladebraune Farbe angenommen hatten. Sie hatten sich vorübergehend in einer Blausäureatmosphäre aufgehalten. Blausäure ist der Wirkung des Enzyms hinderlich.

Die abgestorbenen Larven waren später schwarzbraun. Sodann ist es vorgekommen, daß Larven anfingen, sich wie Puppen am hinteren Ende zu bräunen und zu chitinisieren und dabei doch noch krochen oder zu kriechen suchten. Bei solchen Larven geht die Verwandlung

1) Arch. f. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1902. p. 333.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Zusammenfassung der Resultate der Versuche 21—40a.**
(L = Larve, P = Puppe.)

| Versuch | Datum | Zahl der Larven | Erwärmung | kriechen später oder kriechen nicht | Resultat |
|---|---|---|---|---|---|
| 21 | 30. Jan. | 4 | 41° / 40 m | kriechen | In 5 Tagen 4 L † |
| 25a | 6. Febr. | 4 | 39—40° / 40 m | „ | „ 7 „ 4 normale P |
| 26 | 6. „ | 4 | 40—40½° / 40 m | „ | „ 13 „ 4 normale P |
| 27 | 7. „ | 4 | 40—41° / 40 m | „ | „ 8 „ 3 normale P; 1 ganz unvollkommene, weiche P |
| 28 | 7. „ | 4 | 39—40° / 45 m | „ | „ 6 „ 4 normale P |
| 29 | 7. „ | 4 | 39—40° / 40 m | „ | „ 6 „ 4 normale P |
| 30 | 8. „ | 4 | 41° / 40 m | „ | „ 6 „ 3 L †; 1 L Anfang v. Verwandl. |
| 31 | 14. „ | 4 | 41° / 37 m | „ | „ 11 „ 2 normale P; 1 abgeplattete P; 1 ganz unvollkommene P |
| 33 | 15. „ | 4 | 41° / 30 m | „ | „ 7 „ 1 normale P; 3 L † |
| 34 | 15. „ | 3 | 41° / 40 m | 1 L kr. | „ 7 „ 2 L †; 1 L an beiden Enden mit Anfang von Verwandlung |
| 35 | 16. „ | 4 | 41° / 30 m | 2 „ „ | „ 7 „ 1 unvollkommene P; 2 L †; 1 L mit Anfang von Verwandlung |
| 36 | 16. „ | 4 | 41° / 30 m | 1 „ „ | „ 6 „ 3 L †; 1 unvollkommene P |
| 37 | 16. „ | 4 | 41° / 40 m | 2 „ „ | „ 11 „ 1 L †; 1 L mit Anfang von Verwandlung; 2 gestreckte P |
| 38 | 17. „ | 4 | 41° / 30 m | 2 „ „ | „ 8 „ 4 ganz unvollkommene P |
| 39 | 19. „ | 4 | 41° / 40 m | 2 „ „ | „ 6 „ 3 L †; 1 nicht ganz normale P |
| 40 | 19. „ | 4 | 41° / 40 m | kriechen | „ 6 „ 4 P, 2 P nicht gänzlich normal |
| 40a | 23. „ | 9 | keine | — | „ 5 „ 9 P. |

sehr langsam vor sich und bleibt auf einem wenig vorgeschrittenen Stadium stehen.

Aus der soeben mitgeteilten Tabelle folgt, daß 62 Larven erwärmt wurden; daß 49 Larven sich später vollkommen wieder erholten und krochen; daß dieses bei 13 Larven nicht mehr der Fall war, und daß man schließlich 28 normale Puppen erhielt, welche 19 Fliegen ergaben. Obgleich sich eine Anzahl der erwärmten Larven erholte, hatte der Organismus dieser Larven doch oft derartige Veränderungen erfahren, daß sie abstarben oder eine nur unvollkommene Puppe lieferten. Dieser Erscheinung sind wir oben bei den Schmetterlingsraupen be-



Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

gegnet. Ferner ersieht man aus der Tabelle, daß, solange die Temperatur unter 41° bleibt, die Larven wieder kriechen und in den meisten Fällen dann auch normale Puppen geben; daß aber bei 41° diese Verhältnisse meist unsicher sind. Auf die Dauer der Erwärmung kommt es dabei weniger an. Man muß aber zu den in der Tabelle aufgeführten Versuchen noch die unter a) erwähnten Versuche 18—19 und 20 (29. und 30. Jan.) hinzufügen, in denen je 2 Larven auf $\frac{41^0}{20\ m}$ erwärmt wurden. Diese Larven krochen am folgenden Tage. Ihre weiteren Schicksale wurden nicht verfolgt. Wenn man dann noch Versuch 21—33 (30. Jan. bis 15. Febr.) hinzunimmt, so könnte man glauben, daß die zum Verwandeln reifen Larven am Anfange widerstandsfähiger sind (kriechen), und daß ihre Widerstandsfähigkeit abnimmt, je länger sie im Larvenstadium erhalten bleiben. Ich kann mich mit Gewißheit nicht darüber aussprechen, ob überhaupt junge Larven größere Widerstandsfähigkeit besitzen als ältere und zur Verwandlung reife (vergl. p. 43). Im Anschlusse hieran möchte ich auch erwähnen, daß in früheren Experimenten verkümmerte Fliegenlarven ein Erwärmen von 45° und mehr teilweise ertrugen [1]).

Von den Versuchen mit M. erythrocephala, welche ich später noch anstellte, sei hier einer mitgeteilt, der wegen seiner Resultate bemerkenswert ist. Die Eier hatten dieselbe Herkunft wie in den obigen Versuchen. Die Larven waren in den Sand gegangen, verpuppten sich aber noch nicht. Ihr Darmkanal war bereits gänzlich leer. Sie waren nicht völlig opak wie diejenigen Larven, welche bereits längere Zeit aufgehört haben zu fressen, und bei denen die Verwandlung begonnen hat. Es wurde eine sehr große Anzahl von diesen Larven in einen, feuchte Fließpapierstücke enthaltenden Erlenmeyerschen Kolben gebracht, und dieser am 23. April im Thermostaten 70 Minuten lang auf 40—41° erwärmt. Am 25. April wurden diejenigen Larven, 196 an der Zahl, welche umherkrochen, von denen gesondert, welche infolge der Erwärmung abgestorben waren oder nur noch auf Reiz reagierten. Die 196 umherkriechenden Larven erschienen ganz normal. Nur waren zehn unter ihnen, die, obgleich sie vollkommen munter waren und umherkrochen, eine mehr oder minder bräunliche Farbe besaßen. Einzelne Exemplare waren recht dunkel. Die braune Färbung liegt im Blut. Wenn man die Haut anschneidet, fließt die braune Flüssigkeit aus. Solche braunen Larven starben sehr bald. Am nächsten Tage waren sämtliche 10 Larven tot und schwarzbraun. Jene 196 Larven wurden in einer Kristallisierschale aufbewahrt, welche mit Stücken feuchtem Fließpapier angefüllt war. Die Mehrzahl der Larven starb nach und nach ab. Der weitere Gang der Ereignisse war folgender:

| | | |
|---|---|---|
| 26. April: | 76 | abgestorbene Larven, die meistens schmutzigbraun oder schwarzbraun. |
| | 2 | normale Puppen. |
| | 118 | kriechende Larven. Unter ihnen sind einige (9 Stück) bräunlich; andere fangen an, bräunlich zu werden; andere sind zwar weiß, haben aber schwarze Stellen im Körper. |
| 28. April: | 56 | abgestorbene Larven. |
| | 2 | verkrüppelte, zigarrenförmige Puppen, die keine Fliege geben. |
| | 62 | kriechende Larven (einige bräunlich) oder normale Puppen. |
| 10. Mai: | 9 | abgestorbene Larven. |
| | 53 | normale Puppen. |

1) Arch. f. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1905. p. 397.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Diese 53 normalen Puppen geben bis 18. Mai 41 Fliegen; 12 Puppen sind abgestorben. Mithin haben die 196 Larven, welche die Erwärmung überstanden hatten, nur 53 normale Puppen geliefert, welche ihrerseits 41 Fliegen gaben.

Die zahlreichen, gleichfalls in einer kleinen, mit feuchten Fließpapierstückchen angefüllten Kristallisierschale gehaltenen Kontrollarven verwandelten sich bis auf einige wenige Exemplare sämtlich und gaben Fliegen.

Fassen wir die Resultate dieser Versuche an Lepidopteren- und Dipterenlarven zusammen, so kommen wir zu dem Schluß, daß der schädliche Einfluß der Erwärmung ein recht ausgesprochener ist. Die Temperaturgrade, welche hier in Frage kommen, sind ziemlich fest und, was besonders interessant ist, ziemlich niedrig. Gleichzeitig gehen infolge der Einwirkung dieser Temperaturen im Organismus Veränderungen vor sich, die sich bei der Verfärbung des Blutes dokumentieren und die bereits bei so niedrigen Temperaturen wie 40° und einer Expositionszeit von 15 Minuten beginnen. Ist bei 40—41° die Expositionszeit eine lange, bis 40 Minuten, so können sich die Insektenlarven wieder vollständig erholen, ihre späteren Lebensschicksale werden aber ungewiß. Wir brauchen nicht weiter auf die Anwendung der hier gemachten Erfahrungen auf die freie Natur einzugehen. Eine derartige Wärme, wie wir sie in den vorliegenden Versuchen finden, kommt überall im Sommer im Freien vor. Ihre Einflüsse unterliegen hier infolge lokaler Verhältnisse mannigfachen Abänderungen.

Geisenheim im Rheingau, Mai 1906.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber einen richtenden Einfluss beim Wachstum gewisser Bakterien in Gelatine.

Von **H. C. Jacobsen,**

Assistenten am mikrobiologischen Laboratorium der technischen Hochschule zu Delft.

Mit 8 Figuren und 1 Tafel.

In der Bakterienwelt findet man einige Arten, die sich durch ihr Vermögen, in einigermaßen langen, unabgebrochenen Fäden auswachsen zu können, von den anderen unterscheiden. Hiermit ist zuweilen die Eigenschaft gepaart, in das feste Nährsubstrat eindringen zu können und besonders in Gelatine. Der am meisten charakteristische Vertreter ist wohl der Bacillus Zopfii, der im Jahre 1883 durch Kurth[1]) entdeckt und eingehend morphologisch beschrieben wurde. Er fand, daß beim Wachsen dieses Bacillus drei aufeinanderfolgende Stadien zu unterscheiden sind, nämlich a) ein Fadenzustand, b) ein Schwärmer- und c) ein Kokkenstadium, welche er mit den momentanen Ernährungsbedingungen in Verbindung brachte. Gewöhnlich sieht man im ersten Stadium, daß die Fäden bei ihrem Wachstum in Gelatine sich nach allen Richtungen hin erstrecken, was mit Kurths Beobachtungen übereinstimmt, in einigen Fällen jedoch folgen sie einer bestimmten Richtung, wodurch ein hübsches, regelmäßiges, federartiges Wachstum entsteht. Diese Erscheinung, welche einem gewissen Einfluß zugeschrieben werden muß, und welchen man einen „richtenden“ Einfluß nennen könnte, wurde zuerst von Boyce

1) Kurth, Bot. Zeitung. 1883. p. 409.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Evans[1]) näher untersucht. Diese Forscher kamen zu dem Resultat, daß B. Zopfii ebenso wie höhere Pflanzen für die Schwerkraft empfindlich ist und daß man es hier mit einem Fall von negativem Geotropismus zu tun hat. In demselben Jahre stellte Prof. Beijerinck[2]) fest, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die Bakterie ihre bestimmte Richtung unter dem Einfluß der Temperatur nimmt. Erst im Jahre 1903 wurde die Frage aufs neue erörtert durch H. Zikes[3]), der hauptsächlich die Versuche von Boyce und Evans wiederholte und gleichzeitig den Einfluß der Temperaturunterschiede untersuchte.

Seine Schlußfolgerung war übereinstimmend mit der von Boyce und Evans.

Als die Veröffentlichung von Zikes erschien, hatte ich auf Initiative von Prof. Beijerinck grade begonnen, der Ursache der betreffenden Erscheinung näher nachzuforschen, da sie noch in keiner Weise als aufgeklärt angesehen werden konnte.

Bei der Wiederholung der Versuche der genannten Forscher fand ich, daß sich ihre Folgerungen nicht bestätigten, und nach einer Reihe von anderen Versuchen, die viel eher auf einen Temperatureinfluß hinwiesen, habe ich damals diese Untersuchung abgebrochen, obschon ich dieselbe noch nicht als beendigt ansehen konnte. Vor einiger Zeit habe ich sie wieder aufgenommen und bin nach einer Reihe von Probeversuchen, wovon ich eine Beschreibung der wichtigsten nachstehend folgen lasse, zu der Ueberzeugung gekommen, daß B. Zopfii seine bestimmte Wachstumsrichtung unter dem Einfluß der elastischen Spannung nimmt, welche man auf gewisse Weise in der Gelatine entstehen lassen kann. Außerdem hat sich herausgestellt, daß mehrere Bakterienarten sich in gleicher Weise verhalten, und daß diese Eigenschaft als ein diagnostisches Kennzeichen von Bedeutung ist.

## I. Kultur des Bacillus Zopfii auf schräger Nährgelatine in Reagenzgläsern.

An Reinkulturen von B. Zopfii, wie sie auf die gewöhnliche Weise gewonnen und aufbewahrt werden (d. h. Strichkultur auf schräger Fleischbouillongelatine mit 10 bis 12 Proz. Gelatine), ist die Erscheinung bereits sehr gut wahrzunehmen (vergl. Fig. 1—2).

Die Fäden wachsen auf charakteristische Weise in der Gelatine und nehmen die Form von sehr reinen, mathematischen Kurven an, die alle nach der umgebenden Glaswand gerichtet sind. Diese Erscheinung tritt nur langsam auf, jedoch kann man sie dadurch beschleunigen, daß man die Eprouvetten gelinde erwärmt, indem man sie zum Beispiel auf einen Brutschrank legt. Wenn man nun die Gläser in der Weise niederlegt, daß die Gelatineschicht nach oben gekehrt ist, so erhält man ein einigermaßen anderes Resultat, also wenn man sie 180° um ihre Längsachse dreht, wodurch die Gelatineschicht nach unten kommt. Der Unterschied wird in der Zeichnung verdeutlicht.

In den Röhren, die während der Kultur die zuerst angegebene Lage haben, wachsen die Fäden mehr steil nach oben, während sie in den letzteren weniger steil nach unten gehen (vergl. Fig. 1b, c, d, e und Fig. 2b, c, d, e). Diesen Unterschied glaubte ich damals erklären zu können als hervorgebracht durch den Einfluß, welchen die Temperatur-

1) Boyce, R. und Evans, E., Proc. Roy. Soc. London. Vol. LIV. 1893. p. 300.
2) Beijerinck, M. W., Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 799.
3) Zikes, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 59.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

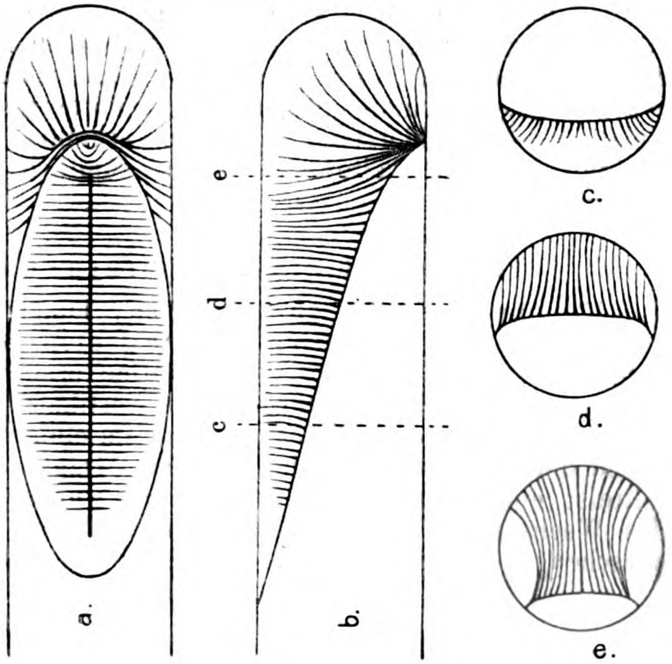



Fig. 1a. Kultur von B. Zopfii auf schräger 10-proz. Nährgelatine von unten gesehen. Während des Kultivierens war die Gelatineschicht nach oben gekehrt.

Fig. 1b. Dieselbe Kultur im Längsschnitt.

Fig. 1c, d und e. Dieselbe Kultur im Querschnitt auf drei verschiedenen Stellen. c, d und e (siehe Fig. 1b). Diese Zeichnungen wurden gemacht, indem man, nach Entfernen der Gelatineschicht aus der Röhre durch gelindes Erwärmen, aus derselben an den betreffenden Stellen dünne Scheiben schnitt, welche zwischen Objektgläsern unter dem Mikroskop oder mit der Lupe untersucht wurden.

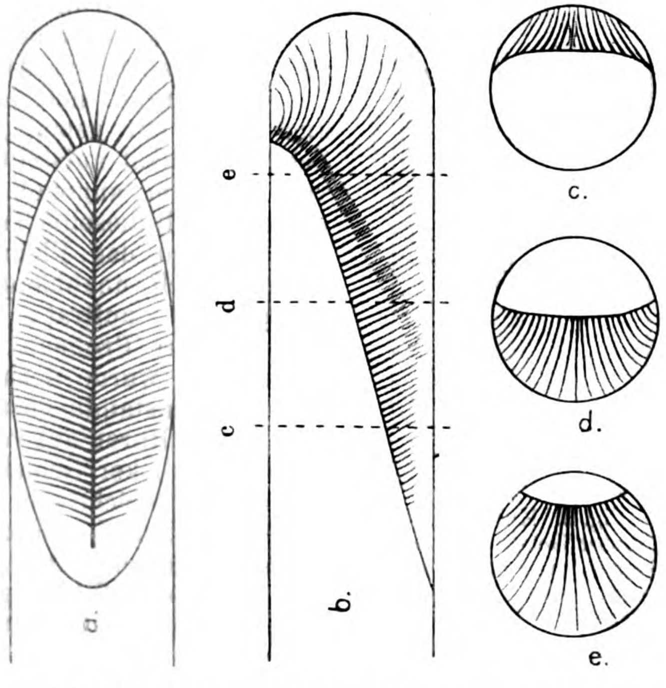



Fig. 2a. Dieselbe Kultur, jedoch während des Kultivierens mit der Gelatineschicht nach unten gekehrt, von oben gesehen.

Fig. 2b. Dieselbe im Längsschnitt. Hier ist auch das Niveau von maximalem Wachstum angegeben.

Fig. 2c, d und e. Dieselbe, auf angegebene Weise untersucht, an drei verschiedenen Stellen. c, d und e im Querschnitt.

unterschiede, die in den ungleichmäßig erhitzten Kulturen vorhanden waren, ausübten und meinte demgemäß die Erscheinung als Thermotropismus auffassen zu müssen.

Um festzustellen, ob diese Auffassung richtig war, machte ich eine Reihe von Versuchen, deren Beschreibung zu ausführlich werden würde und die alle mehr oder weniger ein positives Resultat gaben und mich in der Meinung bestärkten, daß äußerst kleine Temperaturintervalle im Spiele waren. Inzwischen hatte sich herausgestellt, daß man schneller

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu Resultaten kommen konnte, wenn man anstatt der gebräuchlichen 10—12-proz. konzentrierten Gelatine Gebrauch machte von einer solchen, die nur etwa 4 bis 6 Proz. enthielt. Augenscheinlich wird hierdurch die Wachstumsgeschwindigkeit der Fäden befördert, während die konzentrierte Gelatine mehr Widerstand zu bieten scheint. Auf Grund dieser Beobachtung sind die weiteren Versuche sämtlich mit verdünnter Gelatine vorgenommen.

## II. Einfluß der Temperaturunterschiede.

Um diesen Einfluß zu erforschen, konstruierte ich einen Apparat, in welchem eine vertikal aufgestellte Petri-Schale, worin eine dicke Schicht (1,5—2 cm) 5-proz. Nährgelatine erstarrt war, unten abgekühlt, dagegen oben erwärmt wurde. Die vertikale Lage der Gelatine wurde gewählt, weil dadurch die Ausführung am einfachsten war. Auf der Oberfläche der Gelatine war ein vertikaler Impfstrich angebracht und vermittelst einer besonderen Einrichtung wurde nun B. Zopfii während des Wachsens einer Reihe von Temperaturunterschieden ausgesetzt, die zwischen 18—22° und 18—12° schwankten. Dieser Versuch hatte ein überraschend schönes Resultat, welches durch Phot. 1 (Taf.) veranschaulicht wird. Wie es schien, nahmen hier die Fäden die Richtung nach der Stelle, wo die höchste Temperatur herrschte, was völlig mit der früheren Beobachtung von Prof. Beijerinck übereinstimmt und ihm Anlaß gab zu seiner damaligen Auffassung.

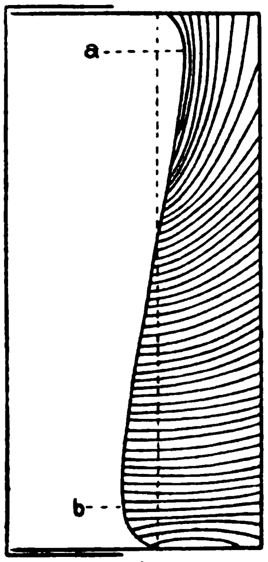



Fig. 3. Kultur auf verdünnter Gelatine, in dicker Schicht und in vertikaler Lage, im Durchschnitt gesehen.

Nun ergab sich jedoch, daß der Versuch auch sehr gut gelang, wenn man die Petri-Schale vertikal aufstellte in einem Brutschrank, von welchem angenommen werden kann, daß darin überall dieselbe Temperatur vorhanden war.

Da also das Phänomen aller Wahrscheinlichkeit nach unabhängig von dem Einfluß der Temperatur auftrat, erschien es überflüssig, noch weitere Proben in dieser Richtung anzustellen und wurde deshalb die Ursache in einem anderen Umstande gesucht.

Die Kulturen auf verdünnter vertikaler Nährgelatine in dicker Schicht hatten ein eigenartiges Aussehen, welches in starkem Maße die Aufmerksamkeit auf sich zog. Die weiche Gelatine erwies sich nämlich als eine elastische Masse, die unter der Wirkung des eigenen Gewichtes oben dünner wurde, unten dagegen an Dicke zunahm (Fig. 3).

Es lag nahe, anzunehmen, daß die Spannungen, die in einem solchen elastischen Körper auftreten, die Ursache der Erscheinung sein müßten. In der Tat war der vertikale Stand der Kulturschale für diesen Versuch bedeutungsvoll, denn wenn man sie horizontal in den Brutschrank setzt, so wächst die Bakterie wie das Mycelium eines Schimmelpilzes radial nach allen Richtungen, woraus sich ergibt, daß die Ursache, die vorher die Fäden in eine bestimmte Richtung wachsen ließ, jetzt völlig fehlt.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## III. Einfluß mechanischer Kräfte.

a) Das Resultat der soeben beschriebenen Probe konnte also der Wirkung einer mechanischen Kraft zugeschrieben werden, und zwar in diesem Falle dem Eigengewicht der Gelatine.

In der Zeichnung (Fig. 3) ist der Verlauf der Fäden in der Gelatine im Durchschnitt wiedergegeben; man sieht hier deutlich, gerade so wie in den Eprouvetten, das Bestreben, von der Oberfläche der Gelatine nach der Glaswand zu wachsen. Daß diese Tatsache nicht von besonderer Bedeutung war und die Bakterie ebensogut die entgegengesetzte Richtung einschlagen konnte, wurde durch den folgenden Versuch bewiesen:

b) Auf dem Boden einer Petri-Schale wurde eine dünne Schicht 12-proz. Nährgelatine nach Infektion mit B. Zopfii zum Erstarren gebracht, worauf sie mit einer dicken Lage 6-proz. Gelatine übergossen wurde. Die Schale wurde wieder vertikal aufgestellt bei 20° C (Taf., Phot. 2).

Das Wachsen fand in ganz gleicher Weise statt, nur wurde die Richtung umgekehrt und hatten sich die Fäden nun bei ihrem Wachsen von dem Boden der Glasschale nach der Oberfläche der Gelatine hin bewegt. Die schön gebogenen Linien, die in der Gelatine sichtbar wurden, hatten das Aussehen von Kraftlinien, und in der Tat konnte nach einiger Ueberlegung in der Richtung der Fäden an jeder Stelle die Richtung der hier wirksamen Kraft erkannt werden. So sieht man in Fig. 3 bei a, wo sich die Gelatine ausgedehnt hat, wie die Fäden der

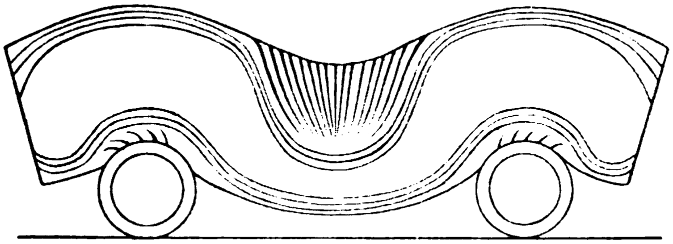


Fig. 4a. Gelatinebalken an der Ober- und Unterseite mit B. Zopfii infiziert. Seitenansicht.

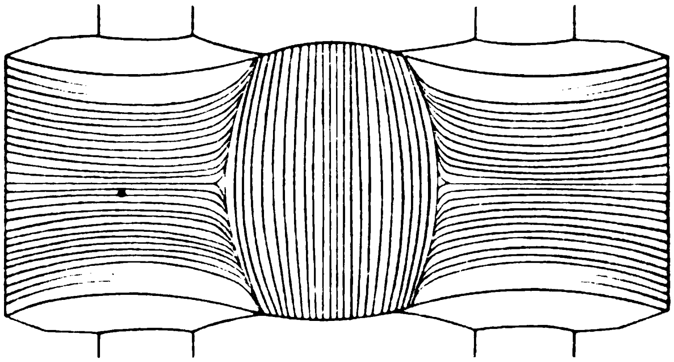


Fig. 4b. Derselbe, von oben gesehen.

Richtung der Zugkraft folgen, während sie sich bei b, wo die Gelatine in derselben Richtung der oben herrschenden Kraft zusammengedrückt wird, senkrecht zu dieser Richtung stellen.

c) Um durch ein einfaches Beispiel aus der Mechanik den Vorgang noch überzeugender zu machen, wurde aus einer dicken Schicht konzentrierter 10-proz. Gelatine ein rechteckiges Stück (12—5—3 cm) aus-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geschnitten und in eine Glasschale auf zwei Glasröhren gelegt. Die Gelatine wurde an der Ober- und an der Unterseite mit B. Zopfii infiziert; das Resultat sieht man in Fig. 4a und b abgebildet.

Betrachten wir die obere Seite des Gelatinebalkens, so finden wir in der Mitte, wo die größte Durchbiegung stattfindet, einen Teil, welcher sich im Zustande der Druckspannung befindet, worauf die Bakterie reagiert, indem sie senkrecht zur Richtung dieser Kraft wächst; dagegen bemerken wir, daß an den Stellen oberhalb der Unterstützungspunkte, wo die Gelatine in Zugspannung ist, das Wachstum in der Längsrichtung des Balkens stattfindet.

Hierdurch ist nach meiner Meinung überzeugend bewiesen, welches die Ursache dieser Erscheinung ist und wie die Bakterie sich derselben gegenüber verhält.

Außerdem ergaben verschiedene andere Versuche, von denen die nachstehenden mir von Bedeutung erscheinen, neue Beweise für die Richtigkeit der hier ausgesprochenen Behauptung.

d) Auf sehr einfache Weise kann man auf die Gelatine einen Druck ausüben, indem man ein Uhrglas, welches vor dem Erstarren auf die Gelatineoberfläche gelegt war, mit einem Gewicht belastet. Umgekehrt

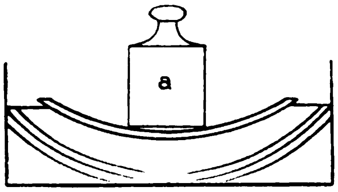



Fig. 5a.

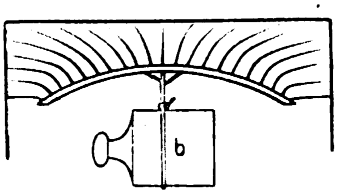



Fig. 5b.

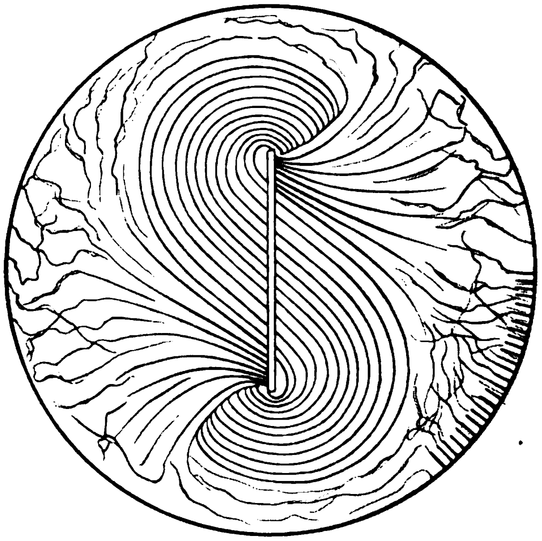


Fig. 6.

Fig. 5a. Kultur in verdünnter Gelatine, welche mittels Uhrglas und Gewicht belastet ist. Querschnitt.

Fig. 5b. Kultur in verdünnter Gelatine, welche auf ähnliche Weise in Zugspannung gebracht ist. Querschnitt.

Fig. 6. Kultur von B. Zopfii in verdünnter Gelatine, welche durch Drehen eines am Deckel befestigten Objektglases in Spannung gebracht ist. Am Rande der Schale ist über eine kleine Strecke die senkrechte Stellung angegeben, welche der Bacillus beim Eintrocknen der Gelatine zuweilen einnimmt.

kann man einen Zug ausüben, indem man die Glasschale, in welcher sich die erstarrte Gelatine befindet, umkehrt und an dem Uhrglas ein Gewicht befestigt. Die Fig. 5a und b geben die Einrichtung des Versuches und das Resultat bei Impfung mit B. Zopfii wieder.

e) In eine horizontal aufgestellte Petri-Schale wurde 5-proz. Nährgelatine gegossen, nachdem sie mit B. Zopfii infiziert war. Vor dem Erstarren wurde ein Objektglas, welches in der Mitte des Deckels mit

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Hilfe von Kork und Siegellack senkrecht befestigt war, in die Gelatine hineingebracht, indem man den Deckel auf die Schale legte. Nach dem Erstarren wurde der Deckel ein wenig gedreht und in diesem Zustand wurde die Schale in horizontaler Lage bei 20° C aufgestellt. An den beiden Enden des Objektglases wurde an der einen Seite die Gelatine zusammengepreßt, dagegen an der anderen Seite auseinandergezogen. An diesen Stellen besonders war deutlich zu sehen, daß die Fäden der Richtung der Zugspannung folgten, während sie sich senkrecht zur Druckrichtung stellten (Fig. 6).

## IV. Einfluß von Spannungen, hervorgebracht durch Wasserentziehung.

Diese Wasserentziehung kann auf zweierlei Weise geschehen und zwar erstens durch Imbibition und zweitens durch Austrocknung.

### a) Imbibitionsversuch.

In eine Glasschale wurde eine Schicht 12-proz. konzentrierter Gelatine in der Dicke von ungefähr 1 cm gebracht. Nach dem Erstarren wurde ein kreisförmiges Stück herausgeschnitten und das hierdurch entstandene Loch mit verdünnter 5-proz. Gelatine gefüllt. Nun entzog die umgebende konzentrierte Gelatine der verdünnten Wasser und die Folge davon war, daß ein bestimmter Streifen $\alpha$ (Fig. 7a, b) außerhalb der Be-

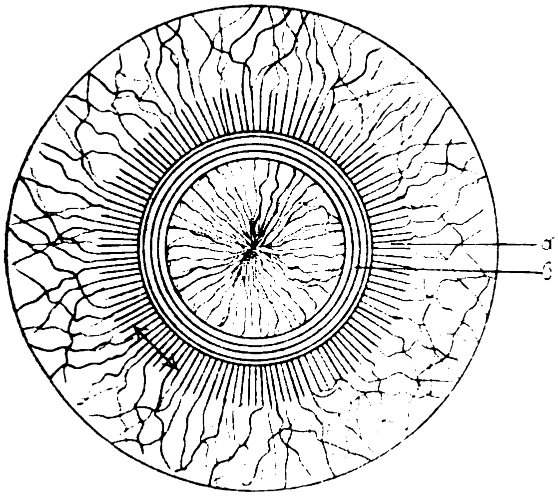


Fig. 7a.

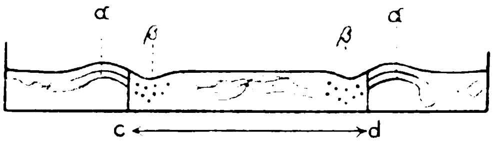



Fig. 7b.

Fig. 7a. Kultur des B. Zopfii auf einer Gelatineplatte (10 Proz.), in welcher sich ein kreisförmiges, mit 6-proz. Gelatine gefülltes Loch befindet. Die Kultur wurde in der Mitte mit einem Impfstiel und am Rande an der Oberfläche infiziert.

Fig. 7b. Dieselbe Kultur im Querschnitt.

rührungsfläche in der 12-proz. Gelatine durch Wasseraufnahme aufschwoll, während ein an der inneren Seite gelegener entsprechender Teil $\beta$ in der verdünnten Gelatine durch Wasserentziehung einschrumpfte. Da die Gelatine in ihrer Bewegung nicht ungehindert war, entstand eine Spannung; in dem Streifen $\alpha$ entstand Druck, dessen Richtung parallel lief mit dem Umfange des mit verdünnter Gelatine gefüllten Teiles; in dem Streifen $\beta$ entstand Zugspannung, ebenfalls hiermit parallel. Die Bakterie reagiert auf beide Spannungen, indem sie sich im Streifen $\alpha$ senkrecht zur Druckrichtung stellt, während sie in dem Streifen $\beta$ der Zugrichtung folgt. In Fig. 7 ist versucht, das Resultat dieses Versuches einigermaßen schematisch darzustellen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### b) Einfluß des Eintrocknens.

Dieser Einfluß ist es, der in den gewöhnlichen Reagenzröhren (Fig. 1 und 2) die Erscheinung verursacht. Die Gelatine trocknet in diesen Gläsern langsam ein, wodurch das Volumen kleiner werden müßte; da aber die Gelatine, im Gegensatz zum Agar, die Kraft hat, an der Glaswand zu haften, wird diese Inhaltsverminderung verhindert und es gerät die Gelatine in Spannung. Dieselbe macht sich geltend, wenn, wie es in alten Kulturröhren wohl vorkommt, die Gelatine durch Berührung mit dem Platinfaden plötzlich sich spaltet. Wenn man nun auf eine solche alte ausgetrocknete Gelatine den B. Zopfii impft und die erhaltene Kultur mit einer solchen vergleicht, die auf einer frisch bereiteten Kulturgelatine erzeugt ist, dann sieht man, daß in der ersten die Erscheinung sofort auftritt, während in der letzten anfangs ein diffuses Wachstum stattfindet, wie man es gewöhnlich an der Oberfläche der Gelatine wahrnehmen kann, während erst später das charakteristische, federartige Wachstum in der Gelatine auftritt.

Daß durch das Erwärmen der Kulturen das Auftreten der Erscheinung beschleunigt wird, ist sehr begreiflich, weil hierdurch die Verdunstung und dadurch das Entstehen der Spannungen befördert wird.

Das Austrocknen geschieht in den beiden Kulturen, welche, wie im Abschnitt I beschrieben ist, in verschiedener Lage kultiviert wurden, auch nicht auf gleiche Weise. Die erste Röhre wird weniger schnell austrocknen als die letztere, aus welchem Umstande das verschiedene Resultat erklärt werden muß.

Da die Gelatinemasse in diesen Eprouvetten überall in Zugspannung gerät, so haben wir im Verlauf der Drähte die Richtung der resultierenden Zugspannung zu sehen.

Durch die gleiche Ursache, das Eintrocknen, sieht man in der Nähe der Wand der Kulturschalen, worin die Kultur erzeugt wurde, mitunter die Erscheinung auftreten; die Fäden wachsen dann über eine kleine Strecke in der Richtung senkrecht zur Glaswand. Fig. 6 soll das veranschaulichen.

Alle die angegebenen Probeversuche sind leicht auszuführen und lassen stets ein zufriedenstellendes Resultat erzielen. Man muß nur dafür sorgen, verdünnte Gelatine zu verwenden, die nicht zu oft aufgekocht ist, weil hierdurch das Widerstandsvermögen vermindert wird und die Gelatine leicht bricht.

Wohl zu beachten ist, daß nur die Gelatine für diese Untersuchungen zu gebrauchen ist; erstens bietet Agar der Bakterie zu viel Widerstand bei dem Eindringen, auch scheint er ein zu wenig elastisches Material zu sein, so daß er bei den Proben leicht bricht. Der Gebrauch von verdünntem Agar ($^1/_2$—1 Proz.) ergab kein besseres Resultat, so daß weitere Proben damit sehr bald aufgegeben wurden. Daß Agar ein viel weniger elastischer Stoff ist als Gelatine, hängt wahrscheinlich sehr eng zusammen mit dem Imbibitionsvermögen, welches bei dem letzteren Material sehr groß ist, während der Agar nur wenig Wasser aufzusaugen imstande ist.

## V. Schlußfolgerung.

Bei allen diesen Versuchen war der schon genannte Spannungszustand ohne Zweifel der einzige wirksame Einfluß, so daß in betreff der Ursache der Erscheinung kein Zweifel mehr besteht. Weiter läßt sich

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

überall ohne Mühe nachweisen, daß die Fäden sich stets verlängern in der Richtung der resultierendeu Zugspannung, dagegen senkrecht zu der der Druckspannung; dieses war besonders klar bei dem Versuch mit dem Gelatinebalken zu beobachten.

Das Liniensystem, das B. Zopfii in der Gelatine während des Wachsens erscheinen läßt, stimmt also überein mit einem Bild von Kraftlinien, vergleichbar mit den „Orthogonaltrajektorien", die bei dem durchgebogenen Balken die Richtung der resultierenden Spannungen angeben.

Wir können demnach hieraus schließen, daß B. Zopfii die Eigenschaft hat, auf einen äußeren Reiz zu reagieren, der in einer elastischen Spannung besteht, und sich dem Druck und dem Zug gegenüber verschieden zu verhalten. Man kann sich hiervon auch sehr gut eine Vorstellung machen, wenn man bedenkt, daß der weiche Bakterienkörper von selbst die Spannung empfinden muß, welche in der umgebenden Gelatine vorhanden ist, da er wohl tatsächlich als ein Teil derselben betrachtet werden kann. Diese Erwägungen bringen mich zu dem Vorschlag, dieser Erscheinung den Namen „Elasticotropie" zu geben [1]).

Bemerkenswert ist es, daß die Bakterie oft noch sehr deutlich die bestimmte Wachstumsrichtung verfolgte, wenn die äußere Kraft, welche zuvor wirksam war und die Erscheinung hervorrief, schon aufgehoben war. Offenbar verbleibt die Gelatine längere Zeit in diesem Zustand der Spannung und kehrt nur sehr langsam zurück in den ursprünglichen spannungslosen Zustand. Daß Gelatine beim Eintrocknen unter dem Einfluß äußerer Kräfte in einen bleibenden Spannungszustand gerät, der fortdauert, auch nachdem die äußere Kraft zu wirken aufhört, wurde schon von Maxwell [2]) festgestellt.

### VI. Verbreitung des Bacillus Zopfii. Allgemeinheit der Erscheinung.

B. Zopfii ist eine in Delft sehr allgemein vorhandene Art. In dem verunreinigten Wasser der Grachten kann man in den meisten Fällen durch Kultur auf Fleischgelatine seine Anwesenheit feststellen. Jedoch wird er hauptsächlich angetroffen in den Schlächtereien, wo er besonders in der warmen Jahreszeit überall zu finden ist. Man findet ihn, jedoch, wie gesagt, im Winter weniger häufig, neben verschiedenen anderen Bakterienarten auf den meisten Gegenständen, die mit dem Fleisch und den Eingeweiden der geschlachteten Tiere in Berührung kommen, z. B.

---

1) Auch könnte man der Erscheinung den Namen „Piezotropie" geben, welches Prof. Beijerinck mir anfangs vorschlug, weil das Wort „Piezoelektrizität" ein allgemein gebrauchter Ausdruck ist für den elektrischen Zustand, worin Kristalle geraten in dem Augenblick, wenn eine äußere mechanische Kraft auf sie einwirkt.

Nach ernstlicher Erwägung erschien aber das Wort „Elasticotropie" doch den Vorzug zu verdienen.

Die elektrischen Ladungen treten in den Kristallen auf während der Deformation, sind aber unabhängig von dem gleichzeitig hervorgerufenen Spannungzustand. Die Ladung kann weggenommen werden, ohne daß dieser Zustand der Spannung sich ändert und eine neue Deformation ist erforderlich, um die Kristalle aufs neue zu laden. Die Erscheinung, von welcher hier die Rede ist, muß dagegen eben als eine Folge dieses elastischen Spannungszustandes betrachtet werden und nicht des Prozesses der Deformation, so daß sie mit der genannten Eigenschaft der Kristalle in keiner Weise vergleichbar ist und es demgemäß besser erschien, ein anderes Wort zu wählen.

Der Ausdruck „Elasticotropie" gibt genügend deutlich an, daß damit Wachstum unter dem Einfluß elastischer Spannung (Zug und Druck) gemeint wird.

2) Clerk Maxwell, J., Proc. Roy. Soc. London. Vol. XXII. 1873. p. 46.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

auf dem Verkaufstisch, den Wagschalen, dem Hackblock, der Schürze des Metzgergesellen u. s. w. Die Kultur und die Erkennung des B. Zopfii sind sehr leicht, da er durch sein eigenartiges Kriechen über die Gelatineoberfläche sich sofort verrät und deshalb direkt in Reinkultur zu bekommen ist. Selbst in der Luft einer Schlächterei fand ich ihn vorhanden, was mit seiner Widerstandskraft gegen Austrocknen, in der unbeweglichen Kokkenform, übereinstimmt. Besonders gern jedoch entwickelt er sich auf Organen, die in Fäulnis geraten. So untersuchte ich einige Male die folgenden Organe einer frisch geschlachteten Kuh, die alle in der Schlächterei spontan infiziert waren, nämlich: Fleisch, Fett, Herz, Niere, Lunge, Magen, Milz und Pankreasdrüse. Außer auf dem Fleisch, worauf B. Zopfii nur wenig angetroffen wird, und dem Fett, auf welchem ich ihn nicht fand, erwiesen sich diese Organe alle mehr oder weniger mit B. Zopfii infiziert. Im Anfang, als alle Teile noch frisch waren, schien die Anzahl der Kolonieen von B. Zopfii nur gering zu sein im Vergleich zu der Masse von anderen Keimen, wie z. B. Mikrokokken, schmelzenden Bakterien und Lufthefen. Sobald jedoch die aërobe Fäulnis eintrat, vermehrte er sich sehr stark, besonders auf Niere, Leber und Lunge. Nach einiger Zeit selbst, als die Niere schon in starke Verwesung übergegangen war, ergab sich, daß die aërobe Flora mehrfach hauptsächlich aus B. Zopfii bestand, was uns an eine spezifische Adaption dieses Bacillus an die Niere und im allgemeinen an weiche drüsenartige Stoffe tierischen Ursprungs denken läßt. Ohne Zweifel gehört er zu den aëroben Fäulnisbakterien, und nach der Auffassung einiger Forscher ist er nahe verwandt mit Proteus vulgaris. So wird auch Proteus Zenkeri, der ebenfalls durch Hauser[1]) entdeckt und als zu der Proteus-Gruppe gehörend beschrieben wurde, als identisch angesehen mit B. Zopfii Kurth[2]). Proteus mirabilis, welcher schwach schmilzt, ist dann anzusehen als eine Zwischenform zwischen Proteus vulgaris, welcher stark schmilzt, und B. Zopfii, der dieses Vermögen gar nicht besitzt. Diese Verwandtschaft erhellt auch aus ihrem übereinstimmenden Betragen in Hinsicht auf das richtende Prinzip in der Gelatine.

Da Proteus vulgaris zu den stark schmelzenden Arten gehört, ist dieses nicht so ohne weiteres durch eine Probe nachzuweisen; jedoch ist es mir gelungen, durch Zufügung von 8—10 Proz. Pepton zu der Gelatine die Richtung der Fäden sichtbar zu machen, bevor das Schmelzen der Gelatine eintrat.

Der Versuch wurde vorgenommen, wie unter IIIa beschrieben wurde; also wurde Proteus vulgaris geimpft auf die Oberfläche einer dicken Schicht 5-proz. Nährgelatine mit 8—10 Proz. Pepton, welche in vertikaler Lage kultiviert wurde. Obwohl der Versuch nicht so schön gelang, konnte doch für Proteus vulgaris dasselbe festgestellt werden, wie für B. Zopfii.

Eine andere Art, die wegen ihrer charakteristischen Art des Wachsens auch der Mühe des Untersuchens in dieser Weise wert schien, war Bacillus mycoïdes, welcher durch sein schwaches Schmelzvermögen sich besser für die Probe eignet, als Proteus vulgaris. B. mycoïdes, der auf dieselbe Methode unter Zusatz von Pepton untersucht wurde, verhielt sich denn auch nicht anders als die beiden erstge-

1) Hauser, G., Ueber Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie. Leipzig 1885.

2) Kuhn, F., Archiv f. Hygiene. Bd. XIII. 1891. p. 40.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nannten, so daß dadurch der Vorgang den Anschein größerer Allgemeinheit erhielt und es anzunehmen war, daß noch mehrere Arten sich als elasticotropisch erweisen würden.

In einfacher Weise kann man den beschriebenen Versuch machen, um die elasticotropischen Bakterien aufzusuchen und ihre vorhandene Menge in einem Bakteriengemisch zu bestimmen. Man mische das zu untersuchende Material nach gehöriger Verdünnung mit etwas Nährgelatine, welche man in dünner Schicht in eine Glasschale gießt. Nach dem Erstarren gießt man verdünnte 6-proz. Gelatine in einer ungefähr 1,5 cm dicken Schicht darüber und kultiviert die Schale in vertikaler Lage bei 20° C, welcher Versuch also genau übereinstimmt mit dem unter III b beschriebenen.

Nach verhältnismäßig kurzer Zeit sieht man die betreffenden Bakterien als deutlich sichtbar gebogene Fäden nach der freien Oberfläche der Gelatine hin wachsen, wo sie nach ihrem Ankommen leicht isoliert und weiter untersucht werden können. Auf diese Weise wurde in Grabenwasser die Anwesenheit einer vierten Art konstatiert, nämlich des Bacillus ochraceus.

Durch denselben Versuch wurde, wie das zu erwarten war, die Anwesenheit von B. mycoïdes in Grachtenwasser und Gartenerde leicht nachgewiesen, während B. Zopfii nebst anderen schmelzenden Arten gleichfalls auf einem in Fäulnis übergegangenen Stück Fleisch gefunden wurde.

Die Untersuchung der genannten schmelzenden Arten, die wahrscheinlich als zu der Proteus-Gruppe gehörig anzusehen sind, wird fortgesetzt, und hoffe ich, später darüber berichten zu können. Dieser Versuch erleidet keine Störung durch das Schmelzvermögen der betreffenden Arten, da dieses sich erst bemerkbar macht, wenn die Fäden bis an die Oberfläche gelangt sind und die tiefer gelegene Gelatine sich überhaupt erst nach und nach verflüssigt. Diese Tatsache gibt zu der Vermutung Anlaß, daß die Trypsinproduktion unter dem Einfluß des Sauerstoffzutritts steht, was wahrscheinlich bei diesen aëroben Arten zusammenhängt mit der Intensität des Wachstums.

Fig. 8. Querschnitt durch eine gewöhnliche Kultur auf schräger Gelatine, in welchem das Wachstumsniveau veranschaulicht ist.

Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß bei allen Versuchen mit B. Zopfii in der Gelatine ungefähr 1—2 mm unter der Oberfläche ein Niveau von maximalem Wachstum wahrzunehmen war. In Fig. 2b und Fig. 8 ist dies angegeben.

Vermutlich gehört also B. Zopfii zu den Mikroaërophilen, und in der Tat erwies er sich auch als ein solcher, wenn man ihn nach der Methode von Prof. Beijerinck[1]) untersuchte.

Daß das spezifische Vermögen, in Fäden zu wachsen, für eine nichtschmelzende Art, wie den B. Zopfii, von teleologischem Belang sein muß, liegt auf der Hand. Mit Hilfe dieser Eigenschaft gelingt es ihm, sich in kurzer Zeit der mehr oder weniger weichen Teile von im Wasser oder anderswo vorhandenen Kadavern allerlei Art zu bemächtigen. Inwieweit nun seine Elasticotropie hierbei von Bedeutung ist, habe ich bis jetzt noch nicht feststellen können, da ich mir über den Weg, welchen

1) Beijerinck, M. W., Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 827.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ich zwecks Lösung dieser Frage einzuschlagen hatte, noch nicht klar war; jedoch hoffe ich demnächst auch über diesen Punkt Aufklärung geben zu können. Bei meinem Suchen nach elasticotropischen Bakterien in Grachtenwasser und Gartenerde fand ich einige schmelzende Sporenbildner, deren Natur ich noch nicht genau erkannt habe, jedoch als mit dem B. mycoïdes verwandt betrachte. Die Tatsache nun, daß diese Arten, bei welchen sich das Vermögen, in Fäden an der Oberfläche der Gelatine zu wachsen, vor dem Schmelzen nur sehr gering erwies und von den gewöhnlichen schmelzenden Formen nicht zu unterscheiden waren, bei dem Wachsen in der gespannten Gelatine vorzugsweise die Fadenform annahmen und z. B. nicht im Anfang von B. Zopfii zu unterscheiden waren, verschafft der Vermutung Boden, daß diese Arten im allgemeinen mit dem Vermögen ausgerüstet sind, sich durch elastische Gewebe von Tieren durchzudrängen, unterstützt durch die genannte Eigenschaft, nämlich die Elasticotropie.

Ich hoffe hiermit nachgewiesen zu haben, daß die Eigenschaft, welche ich „Elasticotropie“ nenne, spezifisch ist für gewisse Bakterienarten und daß dieselbe allem Anschein nach mit ihren biologisch-chemischen Eigenschaften zusammenhängt, wodurch die Verwandtschaft dieser Bakterien untereinander schärfer beleuchtet wird und weshalb man sie als eine besondere Gruppe von Bakterien ansehen könnte.

Von diesem Standpunkt aus betrachtet, hat die beschriebene Erscheinung eine nicht zu unterschätzende diagnostische Bedeutung.

Diese Untersuchungen sind in dem mikrobiologischen Laboratorium der technischen Hochschule unter Leitung des Herrn Prof. Dr. M. W. Beijerinck zu Delft ausgeführt.

## Inhalt.

**Dewitz, J.**, Der Einfluß der Wärme auf Insektenlarven, p. 40.

**Harrison, F. C.**, A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus, p. 34.

**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen, p. 8.

**Jacobsen, H. C.**, Ueber einen richtenden Einfluß beim Wachstum gewisser Bakterien in Gelatine, p. 53.

**Müller-Thurgau, H.**, Ueber den Einfluß der schwefligen Säure auf Entwickelung und Haltbarkeit der Obstweine, p. 11.

**Saito, K.**, Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung, p. 20.

**Stoklasa, Julius**, Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? p. 27.

**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sporenpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (II. Mitteilung), p. 1.

—, (III. Mitteilung), p. 3.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 3/4.

Am 22. August entschlief der Vorstand des Bakteriologischen Laboratoriums der Schweiz. Landw. Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern,

**Herr Dr. Eduard von Freudenreich,**

im 55. Lebensjahre.

Wir teilen diese Trauerkunde den Lesern des Centralblattes, dessen langjähriger treuer Mitarbeiter und späterer Mitherausgeber der Verstorbene war, in tiefster Betrübnis mit.

**Redaktion u. Verlag des Centralblattes f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

Mit 7 Textfiguren und 4 Tafeln.

## Einleitung.

In der Bakteriologie wird vielfach das Aussehen der Kolonieen für diagnostische Zwecke gebraucht. Je nach der Form, dem allgemeinen Typus, der Farbe, der Reaktion, der Gelatineverflüssigung u. s. w. können die Kolonieen der niederen Organismen in verschiedene allgemeine Gruppen geteilt werden. Obgleich viele Unterschiede ohne weiteres wahrnehmbar sind, haben doch die Glieder jeder Gruppe gewöhnlich so viele gemeinsame Eigenschaften, daß sich nur in Ausnahmefällen eine gewisse Kolonieenform mit Sicherheit als die eines bestimmten Mikroorganismus bezeichnen läßt.

Es ist nicht meine Absicht, das Aussehen der Kolonieen für diagnostische Zwecke zu studieren, sondern vielmehr die Kolonieen einiger weniger Typen von Organismen näher zu untersuchen, die verschiedenen Umstände aufzufinden, welche einen Einfluß auf die Form haben, und womöglich die Ursachen der Unterschiede zwischen einzelnen Kolonieen zu erforschen.

Abgesehen von den Beschreibungen, welche diagnostischen Zwecken dienen, hat man den Formen und Wachstumserscheinungen der Kolonieen bisher nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt.

In den bakteriologischen Lehrbüchern findet man hierüber entweder gar nichts oder nur wenige Worte, so daß sich von Literaturangaben nur sehr wenig anführen läßt.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## A. Geschichtliches.

Münden (1) spricht in seiner Arbeit neue, aber sehr wunderbare Ansichten aus. Er untersuchte die Bakterienkolonieen auf Gelatineplatten bei Zimmertemperatur und bei 28° C (!).

In seinem 4. Beitrag beschreibt er Beobachtungen über die Kolonieen von Bac. typhi abdominalis, Vibrio cholerae asiaticae und Bact. coli commune, und versucht, an den Kolonieen dieser Organismen eine Identität mit den höheren Typen des Zelllebens nachzuweisen.

Er spricht von Kolonieen, welche durch Zerklüftungen und Spaltbildungen aus dem erst vollständigen soliden Körper ein vielzelliges Individuum bilden, weiter von Teilungsvorgängen, einem Ausführungsgang, Exkretkanal der Kolonieen u. s. w. Als Charakteristikum der Kolonieen von Bac. typhi abdominalis gibt er die Entstehung eines regelmäßigen konzentrischen Baues an. Weiter spricht er von einem Hyalinschleier, von Pseudopodienkranz, von Plattenepithel, chitinartiger Hülle, Zentral-Körper, -Kanal und -Hülle. Ich werde weiter unten zeigen, daß die Erscheinungen, die er in dieser Weise deutete, entweder auf physiologische oder physikalische Ursachen oder auf falsche Beobachtungen zurückzuführen sind.

Einige Jahre später erschien die Arbeit von St. Serkowski (2). Da mir die Originalarbeit leider nicht zugänglich war, mußte ich mich mit verschiedenen Referaten begnügen.

Serkowski kommt zu dem Schluß, daß die bisherige Differentialdiagnose der Bakterien vom wissenschaftlichen Standpunkt aus als unzureichend und vom praktischen Standpunkt aus als unbequem bezeichnet werden müsse, und glaubt in dem Bau der Kolonieen eine Grundlage für eine neue Klassifikation der Bakterien und eine Erleichterung für die Differentialdiagnose gefunden zu haben.

„Den Ausgangspunkt für die Anschauung bildet die vom Verf. festgestellte Tatsache, daß die Bakterienkolonieen einen ziemlich komplizierten Bau aufweisen, und daß bei einzelnen Bakterienarten ein bestimmter Typus konstant zu beobachten ist. Die Untersuchungen des Verf. sind an in festen Nährmedien kultivierten Bakterien angestellt und die Kolonieen wurden von ihm bei verschiedenen Vergrößerungen in der Weise untersucht, daß er sie in entsprechender Weise zerkleinerte und bald das Zentrum, bald die Peripherie entfernte oder keilförmige und andere Defekte machte u. s. w.“

„In jeder Bakterienkolonie liegt ein „zentrales Gebilde“, welches häufig mit bloßem Auge gut sichtbar ist und welches bei genauer Untersuchung sich als ein spezielles Organ der Kolonie von ziemlich kompliziertem, für wohl charakterisierte Bakteriengattungen konstantem Bau herausstellt.“

„Dieses zentrale Gebilde (Matrix) ist als Keimzentrum anzusehen. Er spricht weiter von einem Zentralkanal, durch welchen die Zufuhr des für das Keimzentrum nötigen reichlichen und frischen Materials erfolgt.“

„Nach ihm sollen Intercellularsubstanz, Parenchym und innere Tochterkolonieen vorkommen, auch sollen die Kolonieen je nach der Bakteriengattung verschiedenartig zusammengesetzt sein und soll es gleichmäßige, granulierte, kugelförmige, sternförmige, konzentrisch ringförmige u. s. w. Kolonieen geben.“

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

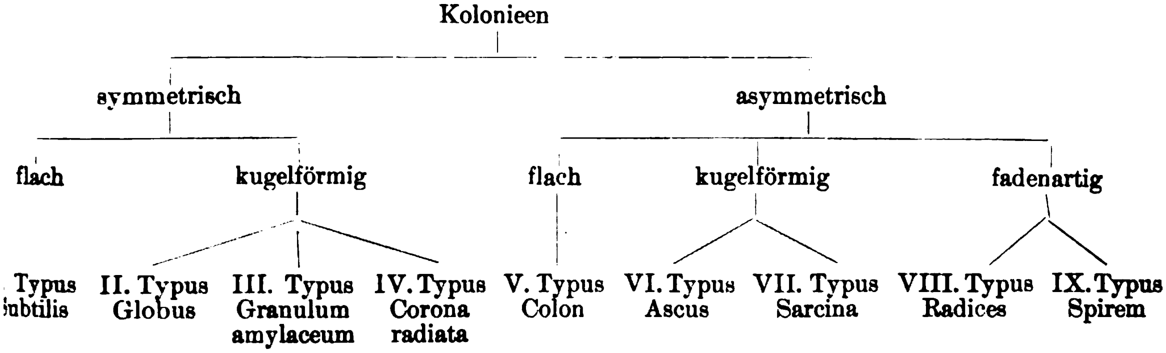
„Es liegt, wie er meint, die Annahme nahe, daß in den sternförmigen Kolonieen die Radien eine Art von Skelett bilden, und daß der konzentrische Bau eine gleichmäßige Verteilung der Säfte erleichtert."

„Beim Typus Coli und ähnlichen weinblattförmigen Kolonieen sind stets vom Zentrum aus astförmig sich verzweigende Furchen sichtbar, welche möglicherweise eine den in Pflanzenblättern vorkommenden Gefäßbündeln analoge Bedeutung besitzen. Alle Bakterienkolonieen zeigen eine gemeinsame, doppelt konturierte Hülle, durch welche die inneren Tochterkolonieen zusammengehalten werden."

„Auf Grund der Tatsache, daß sonst jede Bakterienkolonie aus wohl charakterisierten Teilen zusammengesetzt ist, und diese Zusammensetzung immer und unter verschiedensten Lebensbedingungen für jede Gattung konstant bleibt, muß die Bakterienkolonie als ein zusammengesetzter Organismus aufgefaßt werden."

„Die chemische Zusammensetzung des Nährmediums ist nicht imstande, den Typus der Kolonieen irgend einer Bakteriengattung umzugestalten. Durch die verschiedene Beschaffenheit der Nährböden ist man imstande, nur die Wachstumsgeschwindigkeit, die Farbe, die Größe, die Durchsichtigkeit, das Peptonisierungsvermögen der Kolonie zu beeinflussen, ihr Bau und ihre feinere Zusammensetzung bleibt unverändert."

Auf Grund seiner Arbeit schlägt der Verf. für die Einteilung der Bakterien das folgende System vor:




I. Typus. Subtilis, flache, konzentrisch ringförmige Kolonieen: Bac. subtilis, Proteus vulgaris, Bac. fluorescens liquefaciens.

II. Typus. Globus, massive kugelförmige Kolonieen: Micrococcus tetragenes flavus, Sarcina ventriculi.

III. Typus. Granulum amylaceum, konzentrisch kugelförmige Kolonieen: Micr. concentricus.

IV. Typus. Corona radiata, konzentrische und strahlenförmige Kolonieen: Micrococcus agilis, Bact. prodigiosum.

V. Typus. Colon, asymmetrische, flache, weinblattförmige Kolonieen: Bact. coli commune.

VI. Typus. Ascus, massive, asymmetrische, septierte Kolonieen.

VII. Typus. Sarcina, schichtenförmige, oberflächliche Kolonieen ohne deutlichen Bau: Sarcina ventriculi.

VIII. Typus. Radices, die Kolonieen setzen sich aus verschiedenartig verwickelten, vom Keimzentrum aus entspringenden Fäden zusammen: Proteus mirabilis, Bact. lactis.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IX. Typus. Knäuelförmige Kolonieen: Bac. mesentericus vulgatus.

Obgleich die Kolonieenform im allgemeinen ziemlich konstant ist, zeigt sie doch im einzelnen so große Verschiedenheiten, daß das System Serkowskis als unbrauchbar bezeichnet werden muß.

Die Bedingungen, welche die Kolonieenform beeinflussen, sind so mannigfaltig, daß ein Organismus manchesmal in mehrere der oberen Typen eingereiht werden muß, so z. B. Sarcina ventriculi in Typus II und VII.

Als nächste Arbeit auf diesem Gebiete wäre die von Axelrad (3) zu erwähnen. Auch er untersuchte die Bakterienkolonieenformen in Bezug auf ihre Brauchbarkeit für diagnostische Zwecke und schreibt hierüber: „Die morphologischen und biologischen Kenntnisse der Bakterien sind nur durch das kontinuierliche Studium des Einzelwesens zu erzielen: das Wachstum des einzelnen Individuums zu einer Kolonie soll ein wichtiges und wertvolles differential-diagnostisches Merkmal sein, was von Seiten vieler Bakteriologen übereinstimmend angenommen wird; trotzdem sind bis heute keine genaueren Angaben über die Verwertung dieses Merkmals gemacht worden“. In seiner Arbeit hatte er die Erfahrung gemacht, daß die Entwickelung bezw. die Formbildung der Kolonieen nicht nur von der Temperatur und der Art des Nährbodens abhängt, sondern auch von der Quantität des Impfmaterials sehr stark beeinflußt wird, und zwar in tiefgreifender Weise, daß bei reichlicherer bezw. spärlicherer Aussaat gleicher Reinkulturen Kolonieen entstehen, die sich morphologisch vollständig verschieden verhalten.

Verf. benutzte die Klatschpräparatmethode zur Untersuchung der Struktur der Bakterienkolonieen. Der letzte Teil seiner Arbeit behandelt die Brauchbarkeit der Kolonieformen für diagnostische Zwecke.

Flügge [zit. nach Axelrad (3)] äußert sich über diesen Gegenstand wie folgt: „Nur auf den festen Nährböden kann man die charakteristischen Merkmale der von einer bestimmten Bakterienart gebildeten Kolonie rein zur Anschauung bekommen. Gerade die äußeren Merkmale der isolierten reinen Kolonieen sind aber deshalb von großer Bedeutung, weil dieselben fast für jede Bakterienart modern sind, und weil sich auf diese Weise viel prägnantere Charaktere und besser unterscheidende Kennzeichen darbieten als mit Hilfe der mikroskopisch wahrnehmbaren Formdifferenzen. Aus diesem Grunde läßt sich das Aussehen der isolierten Kolonieen besonders gut zu einer diagnostischen Erkennung der Bakterien benutzen, die sonst auf so große Schwierigkeiten stößt. Es kommt aber sehr oft der Fall vor, daß mehrere Arten in ihrem Wachstum auf Platten ähnlich sind, sowohl in Gestalt als Farbe und Größe, darum ist es notwendig, ein Mittel zu finden, womit man die Kolonieen voneinander leichter unterscheiden kann.“

Gotschlich (5) betrachtet die Kolonieenbildung etwas kritischer und geht auf die beobachteten Gesetzmäßigkeiten näher ein. „Das Wachstum und die Bildung der Kolonieen stellen eines der wichtigsten Artcharakteristika dar; die durch Zellteilung entstandenen, neu gebildeten Individuen lagern sich, besonders auf festen Nährböden, in einer bei den einzelnen Arten verschiedenen, durchaus gesetzmäßigen Weise aneinander, und bilden so makroskopisch (bezw. in ihrem Detail bei schwacher Vergrößerung) sichtbare Kolonieen. Der biologische Mechanismus, welcher dieses gesetzmäßige und vielfach spezifische Zusammenwirken zahlloser

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Einzelwesen (deren jedes doch für sich durchaus selbständig ist), zu einem gemeinsamen Gebilde beherrscht, ist noch ganz unbekannt.

„Es hat nicht an (teilweise gänzlich kritiklosen und phantastischen) Versuchen gefehlt, die Bakterienkolonieen als wirklichen vielzelligen Organismus oder wenigstens als Zellstaat zu erklären. Es fehlt jedoch der Nachweis dafür, daß den in verschiedenen Partieen der Kolonieen gelegenen Bakterien irgendwelche morphologische oder physiologische Differenzierung zukäme, vollständig; im Gegenteil, es erweisen sich die aus verschiedenen Teilen der Kolonieen abgeimpften Bakterien stets unter sich als ganz gleichartig".

Auf diesen letzten Punkt werde ich in dem 2. Teile meiner Arbeit ausführlich zurückkommen.

## B. Die Form der Bakterienkolonieen.

Es läßt sich von vornherein vermuten, daß die einzelnen Bakterienarten je nach der Form der Zelle und deren Teilungsarten nach einer, zwei oder drei Richtungen des Raumes verschiedenartige Kolonieen bilden werden, und es hat sich dies innerhalb bestimmter Grenzen auch als richtig erwiesen.

Nicht nur nach Größe und Dicke, sondern auch durch die eigenartige Beschaffenheit des Kolonierandes unterscheiden sich die Kolonieen der Organismen der verschiedenen Klassen der Schizomyceten, Saccharomyceten und Eumyceten.

Die Kolonieen aller Pilze lassen sich in zwei Klassen teilen, in oberflächliche und tiefliegende Kolonieen. Diese zwei Klassen unterscheiden sich nicht nur durch ihre Lage sowie durch die Art, in welcher die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr erfolgt, sondern auch durch die physikalischen Einflüsse, unter welchen sie entstehen.

### 1. Tiefliegende Kolonieen.

Die tiefliegenden Kolonieen entstehen durch die Teilung einer im festen Nährsubstrat eingebetteten Zelle.

Man hat wohl ein Recht, anzunehmen, daß die Ernährung solcher Kolonieen auf allen Seiten die gleiche ist. Ist die Kolonie nicht sehr groß oder nicht zu weit von der Oberfläche des Nährsubstrates entfernt, so kann man dies auch wohl für die Sauerstoffzufuhr voraussetzen. Obgleich die Sauerstoffdiffusion im Nährboden nicht sehr stark ist, ist es sehr wahrscheinlich, daß in Kulturen von aërobiotischen Bakterien die Zellen an der äußeren Schicht solcher Kolonieen am besten ernährt werden und infolgedessen am kräftigsten sind. Die Anhäufung von Stoffwechselprodukten in der Mitte der Kolonieen wird einen ungünstigen Einfluß auf die inneren Zellen haben. Es ist leicht einzusehen, daß solche von dem festen Nährmedium eingeschlossenen Kolonieen sich unter Druck befinden müssen und daß wegen dieses nach zwei oder drei Richtungen wirkenden Druckes die Kolonie nur einige wenige Formen annehmen kann. Die tiefliegenden Kolonieen sind meistenteils kugelig, wetzsteinförmig, linsenförmig, zuweilen auch wie mit Fäden oder Borsten versehen, die in das Substrat hineinwachsen. Ihre Form beruht meiner Meinung nach auf physikalischen Einflüssen, zum Teil aber auch auf der Vermehrungsweise der Zellen und den allgemeinen Ernährungsbedingungen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Druck auf die Kolonieen ist nicht immer der gleiche, sondern wechselt je nach den physikalischen Eigenschaften des Substrats. Da die kugelförmigen Kolonieen nur in gelatinehaltigen Medien vorkommen, so muß man vermuten, daß hier ein gleichmäßiger Druck stattfindet. Mit Agar-Agar verhält es sich anders; hier scheint der Druck nach zwei Richtungen des Raumes stärker resp. weniger stark zu sein als nach der dritten. Im ersten Falle entsteht eine wetzsteinförmige Kolonie, im zweiten eine linsenförmige. Möglicherweise übt auch die Vermehrungsrichtung der betreffenden Organismen einen Einfluß aus. In Fig. 1 [1]) Tafel I und auch in Kolonieen anderer Organismen sieht man nämlich, daß die Längsachse der Kolonie mit der Vermehrungsrichtung des Organismus zusammenfällt.

Bei der Bildung der kugelförmigen Kolonieen könnten die allgemeinen Ernährungsbedingungen ausschlaggebend sein und zwar:

1) weil von allen Seiten eine gleichmäßige Zufuhr der Nährstoffe stattfinden kann,

2) weil der atmosphärische Sauerstoff zu allen Zellen der äußeren Partieen der Kolonie Zutritt hat,

3) weil der Druck des umgebenden Mediums von allen Seiten gleich ist.

Es kommen aber auch noch andere Kolonieformen als die kugelige in Plattenkulturen vor. Zuweilen findet man Kolonieen, wie sie Fig. 1 No. 1 zeigt.

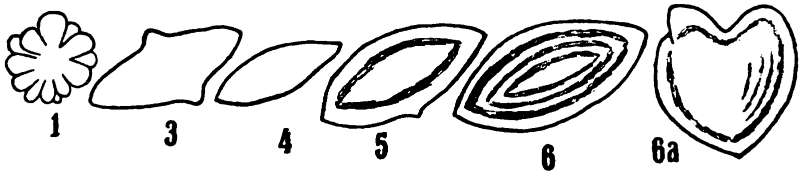



Fig. 1.

1. Bact. coli-Kolonie in Gelatine.
3. Bac. pabuli acidi nach 4 Tagen. 35° Agar.
4. Bac. prodigiosus nach 1 Tage.
5. Bac. prodigiosus nach 2 Tagen.
6. Bac. prodigiosus nach $2^1/_2$ Tagen.
6a. Bac. prodigiosus, Doppelkolonie.

Wir haben es hier mit einer verhältnismäßig großen Kolonie zu tun, die von zahlreichen kleinen Kolonieen eingeschlossen ist.

Solche Kolonieen können sich, wenn man von der Annahme absieht, die kleineren Kolonieen seien durch eine Vermehrung oder durch Teilungsvorgänge der großen Kolonie [2]) entstanden, in verschiedener Weise bilden, nämlich

1) durch Fortschwimmen einzelner beweglicher Bakterien von der großen Kolonie durch das Nährsubstrat und nachfolgendes Auswachsen zu einer neuen Kolonie,

2) durch eine vorübergehende infolge Temperaturwechsels veranlaßte oder durch eine schwache aber andauernde durch die Bakterien bewirkte Verflüssigung der Gelatine (Ward, Günther etc.) oder

3) durch die Gegenwart von Gruppen oder Haufen von Bakterien

---

1) Schnitt durch eine tiefliegende Kolonie von B. lactis albus.

2) Meiner Ansicht nach kann man kaum von Teilungsvorgängen der Bakterienkolonieen sprechen, wie es Münden (siehe oben) getan hat.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in der Gelatine, die während des Gießens der Kulturplatten nicht gleichmäßig verteilt worden sind.

Die Bedingungen, die zur Bildung von wetzstein- und linsenähnlichen Kolonieen führen, sind etwas schwieriger zu finden.

Da diese Form hauptsächlich in Agarkulturen vorkommt, und hier auch zuweilen willkürlich hergestellt werden kann, so muß man annehmen, daß der Agar dem Wachstum nicht nach allen Seiten einen gleichen Druck entgegensetzt.

Der Agar scheint sich nach zwei Richtungen leichter zu spalten als nach der dritten und deshalb scheinen in diesem Medium die Kolonieen die Wetzstein- oder Linsenform anzunehmen. Diese Form kann man auch an Gasblasen in Gelatine, namentlich in Stichkulturen beobachten. Linsenförmige Hohlräume entstehen sehr häufig bei der Bildung von Gasen in zuckerhaltigem Agar infolge von chemischen oder biologischen Vorgängen.

Wenn die Kolonieen sehr tief liegen und das Wachstum kräftig ist, bekommt man in einzelnen Fällen Gebilde, welche wie 2 oder 3 durcheinander gewachsene Kolonieen aussehen. Dies tritt ein, wenn sich das Nährsubstrat in den ersten Stadien des Wachstums spaltet, und wenn dann nach einiger Zeit in einer zweiten Richtung nochmals eine Spaltung, entweder senkrecht zur Längsachse der alten Kolonie oder in einer schrägen Richtung erfolgt, wie es die Fig. 1 No. 6a zeigt. Solche Kolonieen können auch durch Zusammenwachsen von zwei kleineren Kolonieen entstehen. Nur wenn das Wachstum kräftig oder der innere Druck groß ist, entstehen solche Kolonietypen.

Regelmäßig dreilappige Kolonieen fand ich mehrmals bei Sarcina flava; auch die Organismen des umgeschlagenen Weins zeigen nach Mazé und Pacottet (36) dieses merkwürdige Bild.

Diese Formen sind es wahrscheinlich, die Jendrassik (6) die Tri- und Hexaphyllonkolonieen genannt hat. Jendrassik führt ihre Bildung auf polare Eigenschaften der Bakterien zurück. Nach meiner Meinung werden sie mehr durch die Eigenschaften des Agars veranlaßt und dafür spricht auch die Angabe Jendrassiks, daß diese Kolonieformen besonders leicht in Medien entstehen, die Zucker oder ameisensaures Natrium enthalten, und in denen durch Gasbildung ein höherer innerer Druck auftritt.

Hin und wieder kommen Kolonieen mit einem dunkleren Zentrum oder mit dunklen parallel zum Rande laufenden Linien vor (s. Fig. 1, No. 5 u. 6). Diese Erscheinung, die z. B. sehr deutlich an Kolonieen von Bac. prodigiosus zu sehen ist, beruht sehr wahrscheinlich hauptsächlich auf dem täglich abwechselnden Einfluß von Licht und Wärme, wie ich später noch zeigen werde.

Sehr regelmäßig und schön bilden sich tiefliegende Kolonieen jener Organismen aus, die bei ihrem Wachstum einen allmählich steigenden Druck auf das umgebende Medium ausüben, wie es z. B. bei schleimbildenden Organismen, bei Leuconostoc und Micrococcus a Schöne der Fall ist. Solche Kolonieen sind ganz durchsichtig und haben genau die Form einer bikonvexen oder konkavkonvexen Linse.

Ich habe diese vollkommene Linsenform stets nur in den Fällen bemerkt, in denen ein höherer, allmählich sich steigernder Druck auftrat. An Gasblasen oder beim Wachstum gewöhnlicher Kolonieen tritt sie nie so vollkommen auf.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Wenn auch die angeführten Umstände zur Erklärung der meisten Formen der tiefliegenden Kolonieen ausreichen, so lassen sich doch nicht alle Fälle daraus erklären, namentlich nicht die Kolonieen von Bact. lactis acidi und Bac. mesentericus fuscus.

Die Kolonieen von Bact. lactis acidi sind nämlich in Agar immer eiförmig oder kugelig und die von Bac. mesentericus fuscus unregelmäßig haarig oder borstig ohne scharf begrenzten Zentralkörper. Auch die Kolonieen derjenigen Organismen, bei denen Spitzenwachstum am stärksten ausgeprägt wird, z. B. der Kahmhefen- und Schimmelpilze, zeigen ganz eigenartige Formen. Hier wachsen die mycelartigen Hefezellen resp. das Mycel der Schimmelpilze durch das Nährmedium nach allen Richtungen. Dabei treten zwei verschiedene Kräfte in Wirkung: die eine entsteht durch das gleichmäßige Wachstum aller Teile eines Bakterienfadens und verursacht dessen Biegen und Gleiten; die andere entsteht durch das Spitzenwachstum und äußert sich in der Durchbohrung des Nährbodens mit den dünnen Mycelspitzen der Schimmelpilze und Kahmhefen. Die erste Kraft ist typisch für Bakterien jeder Art, die letztere für Mycelbildner. Ob sich das Wachstum der Mycelfäden nach allen Richtungen den physikalischen Eigenschaften des Agars anpaßt, so daß ein Spalten des Agars nicht eintritt, ist schwer zu sagen, aber es ist sehr wahrscheinlich.

Versuche, das Wachstum einer tiefliegenden Kolonie aus einer einzelnen Zelle beobachtend zu verfolgen, sind mir nicht geglückt.

### 2. Uebergangswachstum von tiefliegenden zu Oberflächenkolonieen.

Die tiefliegenden Kolonieen der Mikroorganismen wachsen oft durch das Substrat hindurch zu der Oberfläche empor.

Je nach der Art des Wachstums und des Nährsubstrats variiert auch das Auswachsen der tiefliegenden Kolonieen. In einigen Fällen scheinen die tiefliegenden Kolonieen gar nicht auszuwachsen, sondern wegen ihrer schwachen Vermehrungskraft oder ihrer geringen Ansprüche an Sauerstoff immer unter der Oberfläche zu bleiben. Sehr wahrscheinlich verhindert auch der Wassermangel durch Austrocknen der oberen Schicht des Nährbodens das Auswachsen bei langsam wachsenden Organismen.

Sehr verschiedenartige und schwer zu erklärende Erscheinungen beobachtet man beim Auswachsen von Kolonieen in gelatinehaltigen Nährmedien. Ob einzelne Zellen ohne weiteres durch die Gelatine schwimmen können, oder ob diese zuerst teilweise verflüssigt werden muß, ist schwer durch mikroskopische Beobachtungen zu entscheiden. Wahrscheinlich ist das letztere häufig der Fall.

Es kann auch vorkommen, daß durch zufällig eintretende vorübergehende Verflüssigung der Gelatine (zu hohe Temperatur) einzelne Bakterien die Möglichkeit erlangen, auf gewisse Entfernung von der Kolonie wegzuschwimmen und dann nach dem Wiedererstarren der Gelatine zu Tochterkolonieen heranwachsen, die durch weiteres Wachstum zur Oberfläche gelangen. Wer viel mit Gelatine gearbeitet hat, weiß, daß hin und wieder solche Fälle vorkommen.

Viel leichter zu verstehen ist das Wachstum in Agarmedien, aber auch hier treten beim Auswachsen verschiedener Schizomyceten oder Saccharomyceten verschiedene Erscheinungen auf.

Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die tiefliegenden Kolonieen der Kokken sind am regelmäßigsten gestaltet, und da der Druck, der durch das Wachstum dieser Organismen entsteht, wie es scheint nach allen Richtungen annähernd gleich ist, so tritt bei ihnen das Auswachsen zur Oberfläche nur selten ein. Nur wenn die eingeschlossene Kolonie der Oberfläche naheliegt, erreicht sie bei weiterem Wachstum der ursprünglichen Kugel-, Linsen- oder Wetzsteinform die Oberfläche. Zuweilen geschieht dies dadurch, daß sich eine sekundäre Kolonie senkrecht über der alten Kolonie bildet, doch ist dies verhältnismäßig selten.

Leichter als für Kokkenkolonieen ist das Auswachsen für Bacillenkolonieen zu erklären. Hier werden durch Druck des umgebenden Mediums auf das Innere der Kolonie die Zellen teilweise in eine zur äußeren Wand der Kolonie senkrechte Lage gebracht und können dann durch Spitzenwachstum die Oberfläche des Mediums erreichen.

Fig. 1 Taf. I ist eine Mikrophotographie eines Schnittes durch eine tiefliegende Kolonie von Bacillus lactis albus. Man sieht hier deutlich, wie am Ende der Kolonie die Fäden gebogen, aber nicht gebrochen sind und wie sie in der Mitte senkrecht zur Oberfläche der Kolonie gestellt wurden und dann zur Oberfläche weiter wachsen.

Bei Hefen vollzieht sich das Auswachsen entweder durch Wachstum der tiefliegenden Kolonie bis zur Oberfläche ohne Aenderung der Form, wie z. B. bei untergärigen Hefen, der Carlsberg-Hefe, Frohberg-Hefe, Saaz- u. s. w. Hefe, oder durch mycelartige Zellen, die sich auf allen Seiten der Kolonie bilden und zur Oberfläche ausstrecken, wie bei Kahmhefe etc.

Unter besonderen Umständen ließe sich auch denken, daß die Bakterien der tiefliegenden Kolonie durch den Agar schwimmen und auf diese Weise an die Oberfläche gelangen. Daß eine solche Bewegung vorkommt, konnte ich durch einen sehr einfachen Versuch beweisen. In ein steriles Reagenzrohr mit Wattebausch führte ich einige Tropfen Agar ein. Dieser wurde nach dem Abkühlen in der Mitte durch einen Impfstich infiziert und mit flüssigem Agar von 40° übergossen. Sobald dieser Agar erstarrt war, wurde ganz heißer Agar zugegossen, und auf diesen nochmals heißer Agar, so daß zwischen Impfstelle und Oberfläche drei sterile Agarschichten lagen. Nach einigen Tagen konnte man bereits an der Oberfläche Wachstum bemerken. Hieraus muß man schließen, daß an der Grenze, zwischen Agar und Glas, vielleicht auch zwischen den einzelnen Agarschichten eine Flüssigkeitsschicht vorhanden ist, in welcher sich die Bakterien nach oben bewegen konnten. Aber auch im Innern der Agarmasse, namentlich in der Nähe der Oberfläche, entstanden bei Verwendung von Bacillus prodigiosus, B. nobilis und anderen, große Kolonieen in beträchtlicher Anzahl, woraus folgt, daß diese Bakterien im stande sind, sich durch 1,5-proz. Agar zu bewegen. In der 4. Schicht einer derartig angelegten Kultur von B. prodigiosus war die Wachstumsform einer Wasserhose ähnlich (Fig. 2).

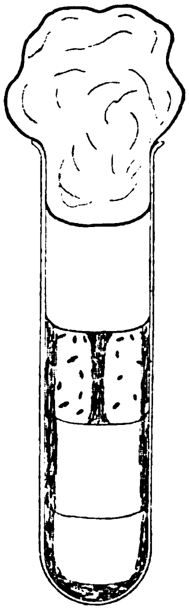


Fig. 2.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### 3. Die Bildung von Oberflächenkolonieen.

Fast alle Bakterien und Hefen haben die Eigenschaft, auf festen Nährböden scharf umrandete, typische, mehr oder weniger rundliche Kolonieen zu bilden.

Dies ist leicht erklärlich bei denjenigen Organismen, die sich nach allen drei Richtungen teilen können (Sarcina, Saccharomyces, Micrococcus). Auffällig ist diese Erscheinung dagegen bei denjenigen Bakterien, die sich nur nach einer oder nach zwei Dimensionen teilen, und diese Arten sind der Zahl nach bei weitem überwiegend. Man sollte vermuten, daß ein einzelner Bacillus oder Streptococcus, auf einen festen Nährboden gebracht, seine Tochterzellen in langen Fäden oder in verästelten Gebilden, ähnlich den Mycelfäden eines Schimmelpilzes, über den ganzen Nährboden aussendete, indem ein Stäbchen aus dem anderen hervorgeht, und jedes einzelne durch seine Stoffwechselprodukte den Nährboden für das Nachbarindividuum verschlechtert und eine negative Chemotaxis verursacht.

Die Erfahrung lehrt das Gegenteil. Die Bakterien wachsen in Oberflächenkolonieen, auch wenn sie sich nur nach einer Richtung teilen können, doch gleichmäßig stets nach zwei Richtungen.

Es müssen also andere Faktoren als die Art der Vermehrung bei der Koloniebildung eine maßgebende Rolle spielen, und Zweck dieses Teils meiner Arbeit ist, sie nachzuweisen und ihren formgestaltenden Einfluß klarzulegen.

Eine Oberflächenkolonie kann auf zweierlei Weise entstehen: entweder

1) durch das Wachstum einer tiefliegenden Kolonie zur Oberfläche, in welchem Falle sie das Produkt einer größeren Menge von Zellen ist, oder

2) durch die Vermehrung einer einfachen Zelle, die sich auf der Oberfläche des Nährbodens befindet.

Im ersten Falle ist es schwierig, das Wachstum der Kolonie von den jüngsten Stadien an zu verfolgen, wegen der großen Zahl der Zellen, die zur Oberfläche gelangen. Wie groß die Anzahl dieser Zellen sein kann, zeigt Fig. 1 Taf. I sehr deutlich, welche die Entstehung einer Oberflächenkolonie aus einer tiefliegenden darstellt.

In dem zweiten Falle kann man zwei Perioden des Wachstums unterscheiden, die allerdings nicht scharf voneinander zu trennen sind: 1) das Auswachsen einer einfachen Zelle zu einer mikroskopisch kleinen Kolonie, wobei das Wachstum jeder Zelle beobachtet werden kann, und 2) das Auswachsen einer solchen kleinen Kolonie zu einer sogenannten Riesenkolonie. Hierbei machen sich die verschiedenen physikalischen und biologischen Einflüsse bemerklich und rufen mancherlei Veränderungen in Form und Bau der Kolonie hervor.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

In den Riesenkolonieen besteht, wie wir sehen werden, bei einzelnen Arten der zweiten Gruppe der Oberflächenbelag ebenfalls vorherrschend oder fast ausschließlich aus kugelförmigen oder ellipsoidischen Zellen, während auf der Unterseite zahlreiche langgestreckte, wurstförmige Zellen auftreten, die in die Unterlage auf weite Strecken hineinwachsen.

Die Arten No. 1, 9, 10 und vielleicht auch noch No. 2 gehören zu denjenigen Formen, welche den typischen Torula-Arten noch sehr nahe stehen, da bei fast allen bis jetzt geprüften Kulturen die Torula-Zellen fast ausschließlich zur Entwickelung kommen oder wenigstens sehr in den Vordergrund treten. Sie können vorläufig mit den Arten No. 5, 8 und 11 den Torulaceen als Untergruppe neben den typischen Torula-Formen im Sinne von Hansen untergeordnet werden.

Andere Arten unserer zweiten Gruppe entwickeln sich sowohl innerhalb der Nährflüssigkeit wie auf deren Oberfläche gleichzeitig mit gemischten Formen.

Die Kultur No. 12, welche zwar ebenfalls mit gemischten, denjenigen der zweiten Gruppe ähnlichen Zellformen auftritt, hat im übrigen mit den meisten Arten dieser Gruppe wenig gemeinsam; sie nimmt eine Sonderstellung unter den vorliegenden Sproßpilzen ein. Meiner jetzigen Auffassung nach steht diese Art der Gruppe Mycoderma nahe. Die Art No. 16 der zweiten Gruppe leitet zur dritten Gruppe.

Die Zellhaut ist bei den verschiedenen Gruppen der Organismen und bei der gleichen Art an verschiedenen Zellen verschieden stark entwickelt. Bei einzelnen Zellen der ersten Gruppe und bei den kugelförmigen Zellen der zweiten Gruppe erreicht sie nicht selten eine beträchtliche Dicke, wobei offenbar auch Schichtung eintritt. Noch viel häufiger als bei den Saccharomyceten werfen diese Zellen eine äußere Hautschicht ab mit all den Erscheinungen, welche ich für die Dauerzellen der Saccharomyceten beschrieben habe[1]). Möglicherweise stellen diese Zellen mit stark verdickter Haut hier ebenfalls Dauerformen (Chlamydosporen) dar. Die Haut der langgestreckten Zellen ist im Gegensatz hierzu im allgemeinen zarter, ebenso wie sie auch bei den kugelförmigen Zellen einzelner Arten der ersten Gruppe meist zart bleibt.

Bei No. 7 ist die Membran der Zellen meist stark aufgequollen und daher schleimig und kaum sichtbar. In älteren Kulturen kann die ganze Würze in eine dickflüssige Schleimmasse verwandelt werden, zuweilen erstarrt die Würze infolge der Schleimbildung vollständig zu einer gelatinösen, von Kristallnadeln durchsetzten Masse.

---

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XVIII. 1895. p. 286.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch bei No. 5 findet Schleimbildung statt und werden die Bodensätze der Kulturen fadenziehend, die Schleimbildung erfolgt jedoch niemals in dem Maße wie bei No. 7. Die Zellhaut bleibt dabei deutlich sichtbar.

Solche Arten, welche wie No. 3, 4, 11, 15 und 17 auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit sich sehr rasch in Form von Häuten wie die Mycoderma- und Willia-Arten entwickeln, schließen Luft zwischen den Zellen ein. Diese Erscheinung läßt darauf schließen, daß die Zellhaut eine ähnliche fettige Beschaffenheit wie bei Mycoderma besitzt.

Der Zellinhalt besitzt, von einzelnen Einschlüssen abgesehen, im Gegensatz zu den Saccharomyceten in der Regel ein geringes Lichtbrechungsvermögen ähnlich demjenigen der Mycoderma-Arten; der Zellinhalt erscheint blaß. Bei jugendlichen Zellen ist der Inhalt homogen, in älteren wird er wolkig und schaumig. Später treten zahlreiche kleine Vakuolen auf, an deren Stelle dann eine einzige (kugelförmige und ellipsoidische Zellen) oder mehrere (langgestreckte Zellen) tritt.

In den Vakuolen ist, ähnlich wie bei Mycoderma, zuweilen eine den ganzen Raum derselben ausfüllende, stärker lichtbrechende Substanz vorhanden, welche Glykogenreaktion gibt und möglicherweise mit den in älteren Zellen auftretenden großen Fetttropfen in genetischem Zusammenhang steht. Jedoch ist zur Zeit noch nicht sichergestellt, ob diese Substanz in der Vakuole selbst entstanden oder von außen eingewandert ist. Bei Mycoderma habe ich eine Einwanderung aus dem Plasma in die Vakuolen bei Einwirkung von Reagentien direkt beobachtet. Andere Beobachtungen sprechen dafür, daß diese Substanz schon ursprünglich in den Vakuolen vorhanden ist. Sehr deutlich trat sie in den Kulturen in Hefewasser mit 6 Proz. Rohrzucker bei No. 5, 12 und 17 hervor. Auch bei den in Hayduckscher Nährlösung gewachsenen Vegetationen war sie vielfach sichtbar. Zuweilen ist in den Vakuolen nur ein rundliches blasses Körperchen vorhanden, welches, ähnlich wie bei den Saccharomyceten, Glykogenreaktion gibt.

In älteren Zellen wird der Inhalt zuweilen krümelig und zart gekörnt, oder es treten wie bei No. 7 zahlreiche, stark lichtbrechende Granula (Oeltröpfchen) auf. Bei dieser Art sind bei der starken Verschleimung der Zellhaut im mikroskopischen Bild von der ganzen Zelle zunächst nur die Granula sichtbar. Bei den meisten der vorliegenden Organismen ist jedoch die Zahl der Granula eine beschränkte.

Die stark lichtbrechenden Einschlüsse bilden ein sehr charakteristisches Element der Zelle der meisten Arten. Die kugelförmigen Zellen enthalten in der Regel 1 Oelkörperchen. In untergetaucht wachsenden Zellen mit homogenem Inhalt ist es kaum sichtbar und wird erst bei der Vakuolenbildung etwas deutlicher. Sehr scharf tritt es hervor, wenn die Vakuolen größer werden, und die Zellen in Hautvegetationen mit der Luft in Berührung kommen. Selbst dann, wenn die Vakuole eine beträchtliche Größe erreicht hat und das Plasma bis auf einen dünnen Wandbelag reduziert wird, ist das Oelkörperchen noch von einer Plasmaschicht überzogen. In der Regel kugelförmig, erscheint es auch bei starker Reduktion des Plasmas nicht selten plattgedrückt, es ist also plastischer Natur.

Die Größe der Oelkörperchen nimmt mit dem Alter der Zellen und bei der Berührung der Vegetation mit der Luft zu, doch finden sich auch Arten, bei welchen es, soweit die Beobachtungen reichen, klein bleibt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen einzelner Art enthalten zwei und mehr Oelkörperchen von gleicher oder ungleicher Größe. Die Größe und Zahl der Oelkörperchen in den kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen kann als diagnostisches Merkmal verwertet werden.

Die langgestreckten Zellen der in der zweiten Gruppe vereinigten Organismen mit gemischter Zellform enthalten ebenfalls Oelkörperchen, und sind diese in ähnlicher Weise wie in den Zellen von Mycoderma verteilt. Sie können jedoch in diesen Zellen auch fehlen, während sie in den kugelförmigen und ellipsoidischen regelmäßig vorkommen.

In manchen Nährlösungen, wie in derjenigen nach Hayduck, kann die Ausbildung von Oelkörperchen auch bei solchen Arten unterbleiben, bei welchen sie in der Regel vorhanden sind, oder sie bleiben sehr klein.

Wenn ich in den vorstehenden Ausführungen bestimmte, im Plasma der Zellen eingebettete stark lichtbrechende Granula als Oelkörperchen bezeichnete, so berechtigen mich hierzu eingehende Untersuchungen, welche ich schon früher an ähnlichen Organismen und auch wieder an den vorliegenden angestellt habe. Mit 1-proz. Osmiumsäure geben die Oelkörperchen in allen Fällen, wenn auch je nach der Größe und dem Alter in verschiedenem Grade eine Reaktion [1]). Vorzügliches Untersuchungsmaterial bot unter anderem der Zellbelag der Riesenkolonieen. Ich benutzte in erster Linie die Arten No. 3, 11 und 17. Ueberhaupt treten im allgemeinen die Oelkörperchen in den auf festen Nährböden gewachsenen Zellen schärfer hervor als in den auf flüssigen. Die Angaben über das Vorkommen von Oelkörperchen und deren Größenverhältnisse sind an Kulturen auf festen Nährböden kontrolliert, jedoch muß man sich vor einer Verwechselung mit Fettröpfchen, welche neben den Oelkörperchen in den Zellen solcher Kulturen vorkommen, wenn sie älter werden, hüten. In den Präparaten aus den Riesenkolonieen war die Färbung mit Osmiumsäure besonders deutlich zu sehen. Die Oelkörperchen schrumpfen bei der Reaktion entweder unregelmäßig ein oder sie nehmen Calottenform an. Hierin liegt ein Beweis, daß es sich nicht um einen einfachen Fetttropfen handelt, sondern um ein plastisches, wahrscheinlich wasserhaltiges Gebilde.

Mit konzentrierter Schwefelsäure färben sich die Oelkörperchen nicht. Alkoholzusatz zu der von der Gelatine abgehobenen Zellenmasse der Riesenkolonieen wirkt, wenn auch die Masse mit dem Alkohol verrieben wird, nur sehr langsam ein. Es sind hier wie bei den Saccharomyceten die bekannten [2]) Hindernisse vorhanden. Gleichwohl sieht man kurz nach der Einwirkung an vielen Zellen, daß das Lichtbrechungsvermögen der Körperchen bedeutend geringer geworden ist, daß sie einen oder mehrere Hohlräume besitzen und auf Osmiumsäure nicht mehr oder nur schwach reagieren, dagegen sich mit Jod und Methylviolett färben.

Nach mehrmonatlicher Einwirkung von Alkohol in verkorkten Gläsern auf die Zellenmasse trat Osmiumsäurereaktion nicht mehr auf. In vielen Zellen war die Stelle, an welcher das Oelkörperchen lag, deutlich sichtbar, indem hier kleine Hohlräume erschienen. Noch deutlicher treten

---

1) Bemerkt sei, daß nach Otto Neubauer, Ueber die chemische und biologische Bedeutung der Osmiumschwärzung (Münch. med. Wochenschr. Bd. LI. 1904. p. 1133) die Ueberosmiumsäure gar kein Reagens auf Fett ist, sondern ein Reagens auf ungesättigte Verbindungen. Nur oleinhaltige Fette schwärzen sich und stellen diese nur einen besonderen Fall dar.

2) Will, H., Anatomie der Hefezelle. (Handbuch der technischen Mykologie von Franz Lafar. Bd. IV. p. 75.)

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die Ueberreste der Oelkörperchen nach Quellung mit verdünnter Essigsäure und nach Färbung mit Jod (schwach gelb) oder Methylviolett hervor.

Sämtliche Beobachtungen bestätigten die früher gemachten.

Neben den Oelkörperchen findet sich bei einzelnen Arten sowohl in der ersten wie in der zweiten Gruppe ein zweiter, sehr charakteristischer Einschluß und zwar in den Vakuolen: kristallähnliche Körper, welche sich meist in lebhafter Bewegung befinden und immer stärker als die gleichzeitig vorhandenen Oelkörperchen hervortreten. In der Regel stäbchenförmig, scheinen sie zuweilen Aggregate von solchen darzustellen. Ueber die chemische Natur dieser Einschlüsse vermag ich zur Zeit nichts anzugeben. Zuweilen zeigen sie die Erscheinung der Doppelbrechung; sie leuchten unter den gekreuzten Nicols hell auf. Soweit meine zahlreichen Beobachtungen an verschiedenem Material von sehr verschiedenem Alter reichen, scheint die Doppelbrechung bei einzelnen Arten eine konstante Eigenschaft der Kristalloide zu sein und könnte demnach als diagnostisches Merkmal verwertet werden. Bei einzelnen Arten regelmäßig vorhanden, fehlen sie bei anderen mit ähnlichen Zellformen. Ferner können sie gleichzeitig mit (No. 5) und ohne die Oelkörperchen vorhanden sein. Die Kristalloide bieten also auch nach dieser Richtung hin eine Handhabe zu unterscheidenden Merkmalen. In manchen Nährlösungen, wie in der Hayduckschen, kommen sie zuweilen nicht zur Ausbildung.

Sehr alte Zellen der in der ersten Gruppe zusammengefaßten Arten enthalten ähnlich wie diejenigen der Saccharomyceten häufig einen sehr großen Tropfen, der nach seinem Verhalten gegenüber Osmiumsäure zum größten Teil fettartiger Natur ist.

Glykogen fehlt nur wenigen Arten. Da ich eingehende Beobachtungen über das Auftreten von Glykogen bei den vorliegenden Organismen angestellt habe, soll erst später in einem besonderen Abschnitt über jenes berichtet werden. Nur so viel sei bemerkt, daß die Glykogenreaktion entweder lokalisiert im Plasma an einzelnen eng umgrenzten Stellen oder diffus, scheinbar über den ganzen Zellinhalt oder nur im Plasma verbreitet auftritt. Zuweilen gibt, wie schon bemerkt, eine die Vakuolen der Zellen völlig ausfüllende, stark lichtbrechende oder in Form von blassen Granulis in den Vakuolen auftretende Substanz Glykogenreaktion.

Die kugeltörmigen Zellen können an jeder Stelle aussprossen; häufig findet das Aussprossen kurz nacheinander an einer eng begrenzten Fläche statt; hierdurch wird sogenannte Kronenbildung veranlaßt (z. B. sehr reichlich bei No. 17 in Hayduckscher Nährlösung beobachtet). Die Sproßgenerationen bilden einreihige, unverzweigte Ketten, wodurch die Verbände ein steifes, sparriges Aussehen erhalten. Die Glieder einer Kette nehmen meist an Größe ab. Im übrigen geht die Sprossung wie bei den Saccharomyceten mit verzweigten Sproßverbänden vor sich. Die Glieder der Sproßverbände hängen wie bei den Saccharomyceten entweder sehr fest zusammen oder sie lösen sich sehr leicht voneinander ab; je nachdem finden sich dann große oder nur 3—4 gliedrige Sproßverbände. Nicht selten treten Erscheinungen auf, durch welche sich die Sprossung der Keimschlauchbildung nähert. Die Zelle stülpt sich an einer Stelle mit sehr breiter Basis aus, sie platzt gleichsam. Die Tochterzelle scheidet sich dann durch eine breite Querwand von der Mutterzelle ab. Abnorme Zellbildung ist nicht selten.

Bei der zweiten Gruppe unserer Organismen bilden die langge-

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

streckten Zellen entweder ausgedehnte Sproßverbände oder lange mycelartige Reihen mit sehr geringer seitlicher Verzweigung durch gedrungenere kürzere oder längere Zellen, oder sie erzeugen in großer Zahl kugelförmige bis ellipsoidische typische Torula-Zellen an den Enden der Stammglieder (No. 1 und 2) und nähern sich damit dem Formenkreis der ersten Gruppe.

Wie schon eingangs erwähnt, gelang es niemals, bei den vorliegenden Organismen irgendwelche Andeutung von Sporenbildung zu beobachten. Am Schluß dieser allgemeinen Betrachtungen mögen noch kurz die Versuche berührt werden, welche zwecks Entwickelung dieser Fortpflanzungsorgane gemacht wurden.

In 2 Versuchsreihen wurde die für die Saccharomyceten übliche Methode der Gipsblockkultur benützt, jedoch war die Vorernährung vor dem Aufbringen der Organismen auf den Gipsblock in beiden eine verschiedene. In der ersten Reihe blieben die von verhältnismäßig jungen, allem Anschein nach gut ernährten Vegetationen in gehopfte Bierwürze von 11,8 Proz. beimpften Kulturen 4 Tage bei 25° C stehen; sie entwickelten sich gut und normal mit kräftigen Zellen. Um die Zellen aller Art, sowohl die im Bodensatz wie in den Haut- und Ringbildungen vorhandenen, auf den Gipsblock zu bringen, wurde der größte Teil der Würze so abgegossen, daß die Hautbildungen möglichst zurückblieben. Durch kräftiges Schütteln vereinigte und mischte man dann den ganzen Inhalt des Kölbchens gleichmäßig.

Nachdem durch einen später anzuführenden Versuch dargetan war, daß die vorliegenden Organismen in Hefezuckerwasser (mit 6 Proz. Saccharose) einen ganz vorzüglichen Nährboden finden, wurde diese Erfahrung in der zweiten Versuchsreihe zur Vorernährung vor dem Aufbringen der Organismen auf den Gipsblock benützt. Die Einimpfung geschah wieder aus verhältnismäßig jungen, kräftigen, in Bierwürze hergezüchteten Vegetationen. Die Kulturen blieben 3 Tage bei 25° C stehen und es wurde dann wie in der ersten Versuchsreihe verfahren.

Eine während 6 Tagen wiederholte sorgfältige Untersuchung der zu 25° C gebrachten Gipsblockkulturen hat nun in keinem Falle den Nachweis von eingetretener Sporenbildung erbringen können. Bei den Arten No. 11 und 17 traten in den kugelförmigen Zellen bis zu drei starklichtbrechende Granula auf, welche Sporen hätten vortäuschen können; ihre wahre Natur ließ sich leicht feststellen.

Ebensowenig hatte ein Versuch Erfolg, bei welchem nach dem Vorgang von Hansen gesättigte Kalksulfatlösung angewendet wurde. Dabei verfuhr man in der Weise, daß der Boden von Freudenreich-Kölbchen mit einer etwa 2 mm hohen Schicht der Lösung bedeckt wurde. In diese impfte man je 2 Platinösen 4 Tage alter, bei 25° C in Würze herangezüchteter kräftiger Kulturen der Organismen. In keinem Falle traten bei 25° C bei der wiederholt während 6 Tage ausgeführten Untersuchung Erscheinungen hervor, welche als eine Sporenentwickelung hätten gedeutet werden können.

Hautbildung findet früher oder später bei allen untersuchten Arten statt und lassen sich aus den dabei auftretenden Erscheinungen recht charakteristische Merkmale für die einzelnen Arten ableiten. Teilweise überziehen sie schon nach 24 Stunden die Nährflüssigkeiten, selbst alkoholische, mit einer Haut, deren Aehnlichkeit mit Mycodermahäuten äußerlich um so größer wird, wenn sich jene wie diese mit fortschreitender Entwickelung gekröseartig falten. Bei manchen Arten dauert es

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

sehr lange, bis eine Oberflächenvegetation entsteht, zuweilen kommt es überhaupt nur zu einer Ringbildung. Bei stärkerer Entwickelung nimmt die Haut zuweilen eine bestimmte Farbe an.

Die Riesenkolonieen bieten auch bei den vorliegenden Organismen ein gutes diagnostisches Merkmal. Selbst bei den Arten der ersten Gruppe, deren Riesenkolonieen zuweilen kaum Unterschiede darzubieten scheinen, wird ein geschultes Auge bei langjähriger Beschäftigung mit diesen Organismen kleine Charakterzüge herausfinden, durch welche sich die Arten gut unterscheiden. Es können also auch im wesentlichen nur aus kugelförmigen Zellen aufgebaute Kolonieen ein gewisses Wachstumsgepräge tragen. Dieses ist aber nicht durch innere Ursachen, durch die Natur der die Kolonieen aufbauenden Zellelemente bedingt, sondern verdankt seinen Ursprung anderen Faktoren, der Massenanhäufung, dem Wachstum der Oberflächenschichten und den durch dieses bedingten Spannungen und Schiebungen.

Die Riesenkolonieen der ersten Gruppe stellen in der Regel mehr oder weniger flache Beläge mit schwach gebuchteter, regelmäßiger oder unregelmäßiger Randlinie dar, welche höchstens radiale Streifung und auf der Oberfläche flache oder abgerundete warzige Erhebungen zeigen.

Die Riesenkolonieen der zweiten und dritten Gruppe mit langgestreckten Zellen in größerer Zahl sind teilweise von sehr zierlicher Gestalt. Die Oberfläche ist gekräuselt oder gekröseartig bald gröber, bald feiner gefaltet. Diese Faltungen treten jedoch nicht immer bei Gegenwart der langgestreckten Zellformen auf. Auch solche Arten, bei welchen diese Zellformen zahlreich vertreten sind, kann eine Oberflächenzeichnung vollständig fehlen oder nur in geringem Grade ausgebildet sein. Die Riesenkolonieen der vorliegenden Organismen weichen also in dieser Beziehung von denjenigen der meisten Saccharomyceten ab. Die Kolonieen ohne Oberflächenzeichnung sind denjenigen von Mycoderma und Willia ähnlich.

Wie bei diesen beiden Gruppen sind in der Hauptsache alle in den Hautbildungen bezw. in den Riesenkolonieen auftretenden Zellformen schon von Anfang an in den Kulturen vorhanden, und kommt es nicht erst allmählich zur Entwickelung besonderer Hautgenerationen wie bei den obergärigen und untergärigen Bierhefen. Hierin besteht also ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen Hefen und den anderen genannten Sproßpilzen. Die Riesenkolonieen der letzteren zeigen in der Regel schon von Anfang an ihre definitive Gestaltung, während die Riesenkolonieen der Bierhefen in Uebereinstimmung mit den Hautbildungen deutlich 2 Entwickelungsphasen erkennen lassen.

Bei einzelnen Arten erscheint die Oberfläche der Faltungen durch „Zotten“ mehr oder weniger dicht behaart.

Die Zusammensetzung des Nährbodens hat zwar einen gewissen Einfluß auf die Wachstumserscheinungen, es handelt sich jedoch immer nur um graduelle Abstufungen.

Häufig tritt eine für die Art charakteristische Färbung, wie rosarot, gelb oder gelbbraun und lederbraun, ebenso wie in den Hautvegetationen auch an den Riesenkolonieen überhaupt erst oder mit größerer Tiefe hervor und gewinnen hierdurch, wie wir sehen werden, die Riesenkolonieen an diagnostischer Bedeutung.

Die Beschaffenheit der Riesenkolonieen bietet ebenfalls charakteristische Merkmale dar; sie kann schleimigglänzend oder mattglänzend

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder matt sein; andere sind käsig trocken oder wachsartig, wieder andere gallertig zähe, andere zeigen Perlmutterglanz. Zuweilen bildet die Riesenkolonie eine zähe, hautartige, fest zusammenhängende Masse.

## Spezielle Morphologie.

### Morphologie der Zellen[1]).

(Nach Beobachtungen an Kulturen verschiedenen Alters — bis zu 5 Jahren — in Nährflüssigkeiten und auf festen Nährböden.)

### Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Kugelförmige Zellen von 1—11 μ Durchmesser; durchschnittliche Größe 3—5 μ. Riesenzellen selten. In älteren Zellen 1 großes Oelkörperchen. Zellenmembran meist sehr stark. Nicht selten abgelöste äußere Hautschicht an den größeren Zellen. Sehr vereinzelt (Riesenkolonieen) sehr langgestreckte, wurstförmige und sogar mycelartige Zellen. (Fig. 3.)

No. 6. Zellen kugelförmig bis schwach ellipsoidisch, ziemlich gleichmäßig, 2—3 μ groß, vereinzelte bis zu 6 μ. Riesenzellen nicht selten. Vereinzelt wurstförmige Zellen. Abnorme Zellformen häufig (Ring von Hefezuckerwasserkulturen, Hayduck sche Nährlösung u. s. w.) 1 kleines Oelkörperchen. An den Riesenzellen zuweilen Ablösung einer äußeren Hautschicht. (Fig. 6.)

No. 17. Zellen kugelförmig bis schwach ellipsoidisch, Größe 1—8 μ, durchschnittlich 3 μ. Riesenzellen. Auf festen Nährböden vereinzelt langgestreckte, dünne Zellen. 1 Oelkörperchen. Zellen auf festem Nährboden (10-proz. Würzegelatine) mit mehreren (gewöhnlich drei) Granulis, eins (das Oelkörperchen) meist größer; vielfach sind die Granula auch gleichgroß. Bei den größeren Zellen Ablösung einer äußeren Hautschicht. (Fig. 17.)

No. 11. Zellen kugelförmig bis schwach ellipsoidisch, Größe 2—6 μ, durchschnittlich 3—4 μ. Riesenzellen vereinzelt, bis 11 μ Durchmesser. In nahezu 5 Jahre alten Würzekulturen sehr zahlreiche Sproßverbände keulenförmiger und fast wurstförmiger Zellen (bis 8 μ : 1—2 μ), aus den kugelförmigen hervorgesproßt, ebenso vereinzelte in den Riesenkolonieen. 1—2 Oelkörperchen, scharf hervortretend. Die Art ist No. 3 und 4 ähnlich, unterscheidet sich jedoch durch die größere Anzahl der Oelkörperchen und die keulenförmigen Zellen, welche bei No. 3 und 4 selbst in sehr alten Kulturen bis jetzt niemals beobachtet wurden. Zellmembran meist stark, häufig mit abgelöster Schicht. (Fig. 11.)

No. 5. Zellen vorherrschend kugelförmig bis schwach gestreckt-ellipsoidisch, daneben ellipsoidische, an den Polen zugespitze (Apiculatus-ähnliche), in geringer Zahl wurstförmige (bis 20 : 2 μ), aus den ellipsoidischen hervorgesproßte und spindelförmige. Größe 2—9 μ, durchschnittlich 3—5 μ, vorherrschend 3 μ. In Nährflüssigkeiten gestreckte Zellen selten, auf der Unterseite der Riesenkolonieen häufiger; im Ring

1) Sämtliche Figuren sind nach Kulturen bei 25° C in gehopfter Würze gezeichnet. Einsaat aus älteren Kulturen. Vergr. $^{745}/_{1}$. a Zerfallende Zellen mit einem Oeltropfen.

Erste Gruppe. Kulturen 3—9 Tage alt. Zellen aus den Hautbildungen und dem Absatz.

Zweite Gruppe. Kulturen 3—14 Tage alt. Zellen aus den Haut- und Ringbildungen sowie aus dem Absatz.

Dritte Gruppe. Zellen aus der Haut einer 8 Tage alten, die fadenförmigen aus einer mehrere Monate alten Kultur.



Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ausschließlich rundliche, ziemlich gleichmäßig. Die kugelförmigen Riesenzellen mit starker Membran und zuweilen abgelöster äußerer Schicht. In den rundlichen Zellen 1—4 Oelkörperchen, verschieden oder gleichgroß; in jeder Zelle mindestens ein großes, häufig zwei, selten mehrere. In ellipsoidischen Zellen liegen die Oelkörperchen an den Polen einander gegenüber, in kugelförmigen meist nebeneinander. In den gestreckten Zellen in der Regel mehrere Oelkörperchen. Die kugelförmigen Zellen des Absatzes in Nährflüssigkeiten neben 1 Oelkörperchen in der Vakuole meist 1 kleines, nicht doppeltbrechendes Kristalloid; die gestreckten der Riesenkolonieen nur mit großen Kristalloiden in den Vakuolen, keine Oelkörperchen. Absätze in fast allen geprüften Nährflüssigkeiten bei Temperaturen zwischen 25° und 6° C fadenziehend, in den Hautbildungen deutlich ausgebildetes „gelatinöses Netzwerk". Die Art hat eine gewisse Aehnlichkeit mit No. 2, unterscheidet sich jedoch von dieser durch den Mangel der Doppelbrechung der Kristalloide und durch die Schleimbildung in den Absätzen und den Hautbildungen. (Fig. 5.)

No. 7. Zellen kugelförmig mit sehr geringen Abweichungen, zuweilen an beiden oder nur an einem Pole mehr oder weniger zugespitzt. Größe durchschnittlich 2—5 $\mu$, einzelne Zellen 8—9 $\mu$. Riesenzellen bis zu 11 $\mu$ Durchmesser. Zuweilen unter abnormen Erscheinungen sehr stark in die Länge gewachsene Zellen. Zellmembran, wenn deutlich sichtbar, hell, meist jedoch verschleimt und dann nicht deutlich sichtbar, leuchtet jedoch unter den gekreuzten Nicols auf, und ist dann die Umrandung der Zelle sehr leicht zu erkennen. Bei einzelnen großen, den Dauerzellen der Saccharomyceten ähnlichen Zellen Membran stark verdickt, dunkel gefärbt. Zellinhalt bei jungen Zellen homogen, schaumig, ohne Oelkörperchen, bei älteren mit vielen Oeltröpfchen (Osmiumsäure) durchsetzt. Absätze in allen Nährlösungen schleimig, aber nicht fadenziehend wie bei No. 5. (Fig. 7.)

No. 8. Zellen kugelförmig bis ellipsoidisch, die vorherrschenden ellipsoidischen sehr schwach zugespitzt. Vereinzelt gestreckt-ellipsoidische und wurstförmige Zellen. Bei niederer Temperatur (+ 6° C) vereinzelt sehr langgestreckte Zellen (bis 50 $\mu$), in neutralem Hefezuckerwasser mit 6 Proz. Saccharose bei 35° C sehr reichlich üppige Sproßverbände dünner, wurstförmiger Zellen. Größe 2—11 $\mu$, durchschnittlich 4—5 $\mu$. Riesenzellen kugelförmig, starkwandig, sehr häufig. Zellmembran meist sehr stark, geschichtet. Ablösung einer äußeren Hautschicht nicht selten. Zellinhalt homogen, feinschaumig, mehr oder minder vakuolisiert, ohne Oelkörperchen; in alternden und toten Zellen wenige Oeltröpfchen. Plasma stärker lichtbrechend als bei den typischen Torula-Arten, ähnlich demjenigen von Kulturhefe. (Fig. 8.)

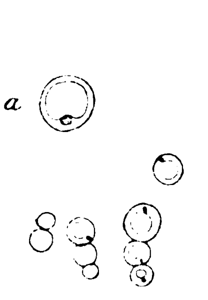



Fig. 3.

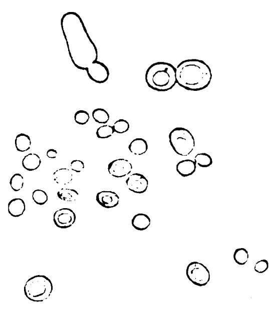


Fig. 6.

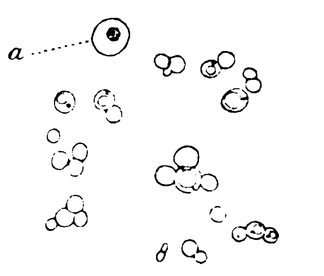



Fig. 17.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

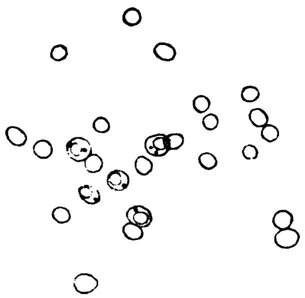


Fig. 11.

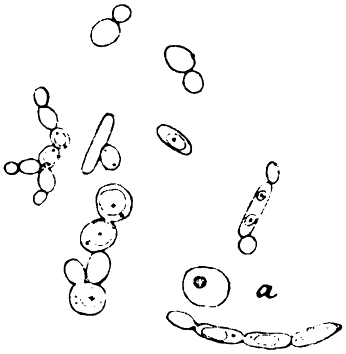



Fig. 5.

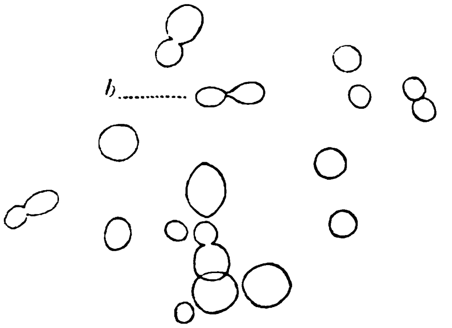



Fig. 7. *b* charakteristische Zellform.

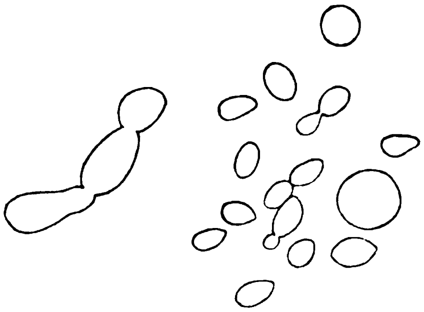


Fig. 8.

## Zweite Gruppe.

No. 1. Zellen vorherrschend kugelförmig und ellipsoidisch von 1—2 $\mu$ Durchmesser. In mäßiger Anzahl kugelförmige Zellen von 4—6 $\mu$ Durchmesser mit sehr starker Membran, an der sich öfter eine äußere Schicht abgelöst hat. Im Ring von Flüssigkeitskulturen fast ausschließlich kugelförmige Zellen von 1—2 $\mu$ Durchmesser. 1 großes Oelkörperchen. Die kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen gleichen typischen Torula-Zellen. Große Sproßverbände langgestreckter, wurstförmiger Zellen bis 20 $\mu$ : 1,6 $\mu$. Zellmembran verhältnismäßig zart. Vereinzelt sehr dünne, bakterienähnliche Zellen. Bis zu 3 Oelkörperchen. (Fig. 1.)

No. 9. Die Mehrzahl der Zellen mit ellipsoidischer und von dieser abgeleiteter Form. Größe 1—5 $\mu$ : 3 $\mu$. Membran der ellipsoidischen Zellen meist zart. 1 kleines Oelkörperchen. Mehr weniger kugelförmige, starkwandige Zellen mit 1 größeren Oelkörperchen selten. Größe 3—6 $\mu$. Im Ring von Flüssigkeitskulturen hauptsächlich kleine kugelförmige und ellipsoidische Zellen. Die kugelförmigen und ellipsoidischen gleichen typischen Torula-Zellen. In geringer bis mäßiger Menge Sproßverbände meist dünner, wurstförmiger Zellen, etwa 11—12 $\mu$ : 1—2 $\mu$, hauptsächlich in den Absätzen von Flüssigkeitskulturen und in der zentralen Partie der Riesenkolonieen auf der Unterseite. Aeltere Hautbildungen auf gehopfter Würze bestehen nahezu ausschließlich aus solchen Zellen. (Fig. 9.)

No. 10. Vorherrschend mehr oder weniger ellipsoidische und gestreckt-ellipsoidische Zellen von sehr wechselnder Größe, durchschnittlich 3—5 $\mu$ : 1—2 $\mu$. Zellenmembran zart. 1 sehr kleines Oelkörperchen und häufig Kristalloid in den Vakuolen (Riesenkolonieen). In geringerer



Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Zahl kugelrunde Zellen mit 1 Oelkörperchen. Kugelförmige Riesenzellen häufig (Riesenkolonieen). Im Ring von Flüssigkeitskulturen vorherrschend kleine rundliche Zellen. Die kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen haben noch sehr viel Aehnlichkeit mit typischen Torula-Zellen. Außerdem im Absatz von Flüssigkeitskulturen sowie in der zentralen Partie und auf der Unterseite der Riesenkolonieen große Sproßverbände durchschnittlich dünner, langgestreckt-wurstförmiger Zellen (bis zu 17—18 $\mu$ : 1—2 $\mu$). Zwischendurch reihen sich kürzere Glieder (5—6 $\mu$) ein. Membran zart, 2—3 Oelkörperchen. Dazwischen kräftigere, breitere wurstförmige, birn- und keulenförmige Zellen. Größere Kristalloide in den Vakuolen. Auch hier stehen die Sproßverbände gestreckter Zellen den mehr oder weniger Torula-ähnlichen Zellen gegenüber zurück. In älteren — 1 Monat — Hautbildungen auf gehopfter Würze sind sie sehr reichlich. (Fig. 10.)

No. 2. Zellen nach Form und Größe sehr verschieden. 1) Kugelförmige und ellipsoidische Zellen, 2—6 $\mu$ groß, vorherrschend kleine. Sehr häufig kugelförmige Riesenzellen, bis 11 $\mu$ groß. Die größeren Zellen mit starker Membran, zuweilen mit abgelöster äußerer Schicht. Meist nur 1 mäßig großes Oelkörperchen (kleiner als bei No. 1). Doppelbrechende Kristalloide in den Vakuolen. 2) Gestreckte, wurstförmige Zellen (bis zu etwa 16 $\mu$ : 1,6 $\mu$); zuweilen sehr zart und dünn oder derb und breit (Riesenkolonieen). Doppeltbrechende Kristalloide in den Vakuolen. Oelkörperchen klein, treten wenig hervor. Langgestreckte Stammglieder eines Sproßverbandes erzeugen an ihren Enden die kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen (sehr gut ausgebildet an der Oberseite der Riesenkolonieen).

Welche der beiden Kategorieen von Zellen vorherrschend ist, hängt von der Form ab, in welcher sich der Organismus auf festen und flüssigen Nährböden entwickelt. In den Hautbildungen und auf der gekräuselten Oberfläche der Riesenkolonieen treten die gestreckten Zellen mehr oder weniger in den Vordergrund, auf den glatten die Zellen der ersten Kategorie.

Die Art No. 2 ist der Art No. 1 sehr ähnlich, unterscheidet sich jedoch von ersterer durch die Art der Verzweigung und durch die Gegenwart von Kristalloiden. (Fig. 2.)

No. 15. 2 Typen von Zellen. 1) Kugelförmige bis schwach ellipsoidische von 2—5 $\mu$ Durchmesser; starke Membran. Riesenzellen selten, bis 11 $\mu$ groß, öfter mit abgelöster äußerer Hautschicht. 1 Oelkörperchen, im Gegensatz zu gleichgroßen Torula-Formen klein. 2) Durch Uebergänge mit 1 verbunden zierliche Sproßverbände keulen- und wurstförmiger Zellen, Größe 8—9 $\mu$ : 2—3 $\mu$. Einzelne Sproßverbände aus sehr langgestreckten Gliedern, 40 $\mu$ : 2 $\mu$. Auch in diesen Oelkörperchen, jedoch nicht mit der Regelmäßigkeit wie bei den kürzeren und in der Zahl wechselnd. Auch hier sind die Wachstumserscheinungen maßgebend für die vorherrschend in die Erscheinung tretende Zellform. (Fig. 15.)

No. 16. Aehnlich No. 15. 1) Kugelförmige bis gestreckt-ellipsoidische Zellen von 2—5 $\mu$ Durchmesser, große Apiculatus-ähnliche. Einzelne kugelförmige Zellen 5—6 $\mu$. Riesenzellen von 8—9 $\mu$, starkwandig, mit abgelöster äußerer Hautschicht. 1 kleines Oelkörperchen, doppeltbrechendes Kristalloid. 2) Die gleichen Zellformen wie bei No. 15 in den gleichen Dimensionen. Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen, bis 42 $\mu$ : 2 $\mu$, mit Oelkörperchen und doppeltbrechendem Kristalloid. Zellen miteinander verklebt, zerteilen sich schwer im Wassertropfen. In

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Riesenkolonieen sind an der Oberfläche die reihenweise angeordneten Sproßverbände der langgestreckten Zellen, denen sich nur in sehr weiten Abständen ein gleich gestalteter Seitenast angliedert, dicht von kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen bedeckt, die an der Längsseite der gestreckten Zellen (wie bei Monilia und Dematium) oder an den Enden entstehen. Wie bei No. 2 und 15 ist auch hier das Vorherrschen der gestreckten und der gedrungeneren Zellformen von den Kulturbedingungen abhängig. (Fig 16.)

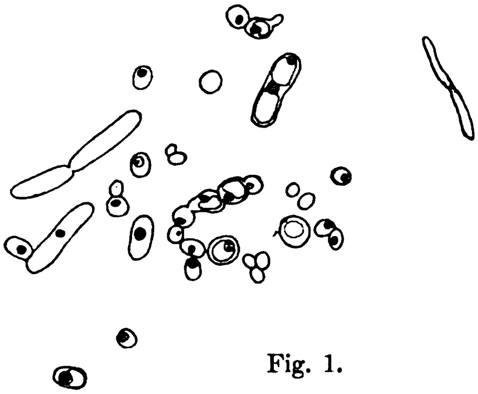


Fig. 1.

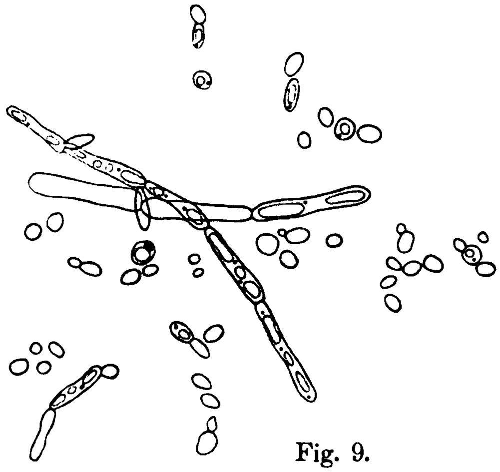


Fig. 9.

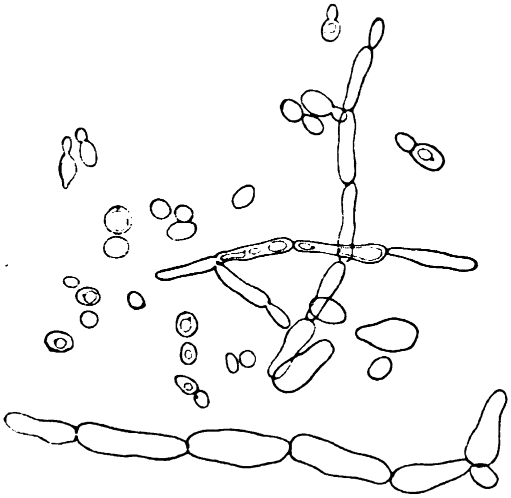


Fig. 10.

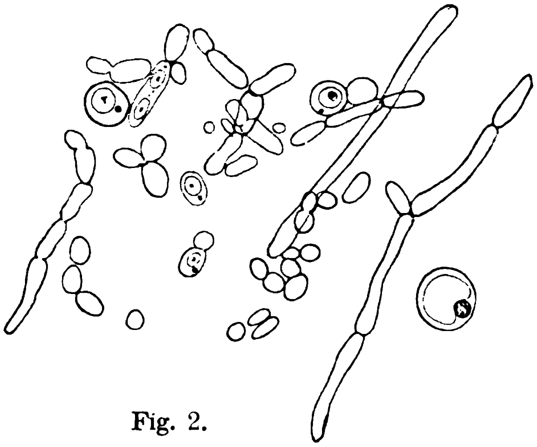


Fig. 2.

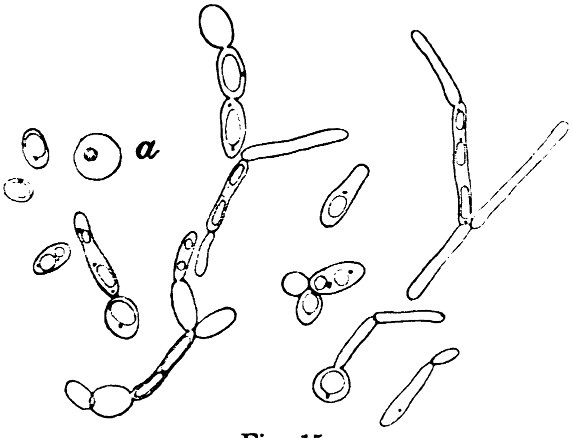



Fig. 15.

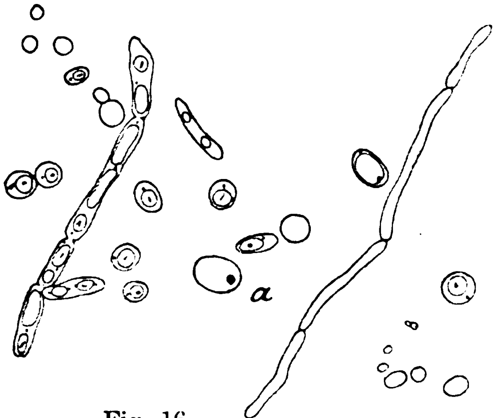



Fig. 16.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dritte Gruppe.

No. 12. Zellen sehr verschieden. Charakteristisch sind 2 Formen: 1) spindelförmige, etwa 6—16 $\mu$ : 2—3 $\mu$ groß, mit scharf hervortretenden Oelkörperchen und Kristalloiden in den Vakuolen (in jüngeren Hautbildungen). Die Zellformen sind bis zu einem gewissen Grade den Zellen von typischen Mycoderma-Formen um so mehr ähnlich als sie, wie diese häufig gebogen sind. Kürzere Zellen Apiculatus-ähnlich. Längere Zellen bis zu 28 $\mu$ : 2 $\mu$ in großen Sproßverbänden, die später fast fadenförmig werden (in älteren Häuten und an der Unterseite der Riesenkolonieen). In den Vakuolen der langgestreckten Zellen ebenfalls regelmäßig Kristalloide, sehr häufig in Form eines dünnen, langen Stäbchens; zuweilen auch Konglomerate von solchen. Außerdem sehr kleine Zellen von rundlicher und ellipsoidischer Form, 1—3 $\mu$ groß, mit zarter Membran. 1 kleines Oelkörperchen vorhanden, aber nicht scharf hervortretend. Einzelne kugelförmige Zellen von 4—5 $\mu$ Durchmesser mit starker Membran und größerem Oelkörperchen. Kugelförmige Riesenzellen 8—9 $\mu$.

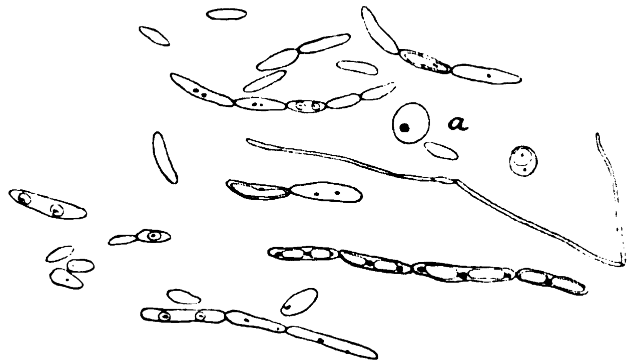



Fig. 12.

## Wachstumserscheinungen in Nährflüssigkeiten.

a) Würze-Tröpfchenkulturen.

Die Tröpfchenkulturen wurden in der üblichen Weise mit gehopfter Bierwürze von 11,5 Proz. B. und jungem kräftigen Aussaatmaterial angelegt. Zimmertemperatur.

Erste Gruppe.

Die kugelförmigen bis ellipsoidischen Zellen der Organismen dieser Gruppe vermehren sich, ausgenommen No. 5, 7 und 17, deren Wachstum überhaupt in allen Nährböden ein verhältnismäßig langsameres ist, sehr rasch mit den gleichen Zellformen. Es entstehen mehr oder weniger dichte unregelmäßige Haufen, deren Rand da und dort ein Sproßverband überragt. Die Zellen befinden sich anfangs noch in Sproßverbänden. Früher oder später zerfallen diese und zerfließen dann die kompakten Zellhaufen vom Rande aus, wobei sie sich im Würzetröpfchen weit ausbreiten. Bei No. 3 + 4, 11 und 17 treten einzelne Partien der dichten Haufen und später auch einzelne Zellen und Sproßverbände schärfer hervor, da sie Luft zwischen sich einschließen bezw. die Zellen von einer Lufthülle umgeben sind. Hierdurch erhalten die Kolonieen, wie diejenigen von Mycoderma und Willia ein besonderes Gepräge. Während

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

in den zerflossenen Kolonieen der übrigen Arten die Zellen dicht nebeneinander liegen, erscheinen sie bei No. 5 und 7 durch Zwischenräume getrennt, die von Schleim (Verschleimung der Zellmembran bei No. 7) erfüllt sind. Bei No. 5 geht diese Verschleimung soweit, daß die Kolonieen fadenziehend werden. Sie erhalten hierdurch ein eigentümliches, glasiges Aussehen. Die Sprossung erfolgt in verschiedener Weise. Bei No. 3 + 4 entstehen Sproßverbände in Reihen. Wenn an der Mutterzelle eine zweite Tochterzelle entsteht, dann sproßt sie weiter entfernt von der ersten hervor, so daß die beiden Sproßreihen nahezu einen rechten Winkel bilden. Der Sproßverband erhält hierdurch ein steifes Aussehen. Bei No. 6 und 11 sind die Sprossungserscheinungen mannigfaltiger. Teils gleichen sie denjenigen von No. 3 + 4, teils stimmt die Sproßfolge mit derjenigen gewöhnlicher Hefen (Saccharomyces) überein. Auch Kronenbildung wurde beobachtet. Bei No. 17 dagegen wurde im vorliegenden Versuche nur eine Sproßfolge wie bei Hefe beobachtet, nach anderen Befunden ist diese Art aber auch zu einer sehr üppigen Kronenbildung befähigt. Diese findet auch bei No. 7 neben einer Sproßfolge in Reihen und wie bei gewöhnlicher Hefe statt.

Das Lichtbrechungsvermögen der Kolonieen ist ein viel geringeres als bei den Kolonieen der Kulturhefe und selbst der wilden Hefen in Tröpfchenkulturen; sie sind im allgemeinen sehr blaß. Immerhin bestehen auch hier gewisse Abstufungen. Näher soll hierauf nicht eingegangen werden; erwähnt sei nur, daß sich die Kolonieen von No. 11 von denjenigen der anderen Arten dieser Gruppe und auch der zweiten durch ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen abheben.

## Zweite Gruppe.

Entsprechend der mannigfaltigeren Gestaltung der Zellen bei den Organismen dieser Gruppe sind auch die Wachstumserscheinungen der Kolonieen etwas mannigfaltiger als bei denjenigen der ersten Gruppe.

Soweit kugelförmige und ellipsoidische Zellen als Ausgangspunkt von Kolonieen in Frage kommen, wiederholen sich allerdings nur die Erscheinungen der ersten Gruppe. Die mehr oder minder dichten Zellhaufen zerfließen, was dem Verhalten der meisten der aus den gestreckten, wurstförmigen Zellen hervorgegangenen Sproßverbänden gegenüber besonders hervorzuheben ist, meist sehr bald. Die Sproßfolge bei den kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen ist gleich derjenigen bei der ersten Gruppe, jedoch wurde Kronenbildung niemals beobachtet. No. 1, 9 und 10 vermehren sich in Sproßreihen oder wie gewöhnliche Hefe, No. 15 und 16 nur wie diese. Bei No. 1 vermehren sich die wurstförmigen Zellen unter seitlicher Verzweigung mit gestreckt-ellipsoidischen Zellen. Nach 24 Stunden haben sie weit ausgedehnte lockere Kolonieen gebildet, deren Seitenglieder teils wurstförmig, teils kurz, gestreckt-ellipsoidisch sind und sich ablösen. Sie bilden den Uebergang zu den kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen. Mit zunehmender Ausdehnung der Sproßverbände werden deren Achsenglieder sehr lang, die seitliche Verzweigung bleibt aber längere Zeit eine sehr geringe; es sind nur Seitenglieder erster Ordnung vorhanden. Erst am 6.—7. Tage sind an den weit über den dichteren Kern der Kolonieen hervorragenden Sproßverbänden langgestreckter Zellen, teilweise auch Seitenglieder zweiter Ordnung entstanden, so reichlich und regelmäßig wie bei No. 2 ist jedoch die Verzweigung nicht. Während die Zellen dieser Kolonieen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

noch fest zusammenhalten, sind die Kolonieen der kugelförmigen und ellipsoidischen längst zerflossen.

Bei No. 9 sind dagegen an den Sproßverbänden wurstförmiger Zellen, welche mit denjenigen bei No. 1 große Aehnlichkeit haben, schon am zweiten Tage Seitenglieder zweiter Ordnung vorhanden. Aus dem dichter werdenden Kern der Kolonieen ragen später nach allen Richtungen hin Sproßverbände, die an ihren Enden meist nur 1—2-gliedrige Seitenäste erster Ordnung tragen. Die Sproßverbände wurstförmiger Zellen von No. 10, welche sich anfangs mit kürzeren Gliedern vermehren, haben sich am zweiten Tage weit ausgebreitet und unterscheiden sich sehr wesentlich durch ihre langen dünnen Zellen von den ähnlichen Sproßverbänden der Arten No. 1 und 9. Hierzu kommt noch, daß sie lockerer wie bei diesen bleiben.

Nicht selten sind bei No. 10 Sproßverbände großer (wie Kulturhefezellen, von welchen sie sich jedoch durch das geringe Lichtbrechungsvermögen und den homogenen, stark reduzierten Inhalt unterscheiden) kugelförmige Zellen, die häufig in Keulenform übergehen, sowie dünnere gestreckte Glieder entwickeln. Ob es sich nur um Riesenzellen handelt, die sich ja in allen Kulturen vorfanden und sich in der früher (im allgemeinen morphologischen Teil) angegebenen Weise verhalten, mag dahingestellt bleiben.

Die Kolonieen wurstförmiger Zellen von No. 2 zeigen zwar gewisse Aehnlichkeit mit denjenigen von No. 1, jedoch sind jene stärker verzweigt (Seitenglieder zweiter Ordnung). Die Verzweigung ist infolge der längeren Seitenglieder eine dichtere, büschelförmige. An einzelnen Kolonieen finden sich weit hervorragende Sproßverbände, deren Achsenglieder, ähnlich wie bei No. 1, sehr lang geworden sind. Die Kolonieen stehen auch in dieser Hinsicht nicht nur zu No. 1, sondern auch zu den gleichen fast aller anderen Organismen dieser Gruppe durch einen sehr raschen (schon am fünften Tage) Zerfall im Gegensatz. No. 15 bildet weitausgebreitete Sproßverbände, deren sehr inhaltsarmen blassen Zellen, ebenso wie die ellipsoidischen vielfach von einer Lufthülle umgeben sind. Die Sproßverbände fallen noch früher als bei No. 2 (schon zwischen dem dritten und vierten Tage) auseinander. Mehr oder minder lockere Haufen gestreckt-ellipsoidischer bis wurstförmiger Zellen stellen die Sproßverbände bei No. 16 dar, die sehr bald so dicht und unübersichtlich werden, daß der Grad der Verzweigung nicht mehr festzustellen ist. In keinem Falle hat die Wachstumsform Aehnlichkeit mit derjenigen der typischen Mycoderma-Arten.

Das Lichtbrechungsvermögen der Kolonieen, welches wieder im allgemeinen ein geringes ist, zeigt auch bei dieser Gruppe verschiedene Abstufungen. Die Kolonieen von No. 15 beispielsweise sind, abgesehen von den Stellen mit Lufteinschluß, so blass, daß sie bei 50facher Vergrößerung eben noch sichtbar sind, dagegen sind die dichten Kolonieen von No. 16 infolge ihres stärkeren Lichtbrechungsvermögens bei der gleichen Vergrößerung deutlich zu erkennen.

### Dritte Gruppe.

Schon nach 24 Stunden sind reich verzweigte Sproßverbände wurstförmiger oder gestreckt-ellipsoidischer bis spindelförmiger Zellen mit Seitengliedern zweiter Ordnung vorhanden. Nach 48 Stunden sind an diesen Sproßverbänden sehr lange dünne Zellen entstanden, welche große Aehnlichkeit mit den gleichgestalteten von No. 10 haben, die Verzweigung

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist jedoch hier auch schon bis zu Seitengliedern zweiter Ordnung vorgeschritten. Nach 4 Tagen sind die Tröpfchen von einem Flechtwerk sehr dünner, an den Enden spärlich oder nicht verzweigter Fäden erfüllt, in welchem einzelne dichtere Partieen (die Zentren der Kolonieen) erkennbar sind. Das Aussehen der Kolonieen stimmt mit denjenigen der Einzellkulturen in 10-proz. Würzegelatine überein. Am fünften Tage haben sich die Kolonieen soweit ausgebreitet, daß sie vielfach über den Rand der Tröpfchen hinausragen, wobei sie Flüssigkeit mit sich gezogen haben. Die Verzweigung der Fadenenden ist jetzt etwas reichlicher.

b) In größeren Mengen von künstlichen Nährflüssigkeiten verschiedener Art[1]).

Da möglicherweise bei Anwendung verschiedener Nährflüssigkeiten Verschiedenheiten insbesondere hinsichtlich der Zeit der Entwickelung, der äußeren Erscheinungen während und nach der Entwickelung, der Form der Bodensätze und Hautbildungen auftreten konnten, kamen mehrere Versuchsreihen nach dieser Richtung zur Ausführung.

Zunächst wurden folgende Nährflüssigkeiten angewendet.

1) Gehopfte Bierwürze von 14,2 Proz. B. (Kühlschiffwürze), die gleiche Würze wie bei 2.

2) Vorderwürze (ungehopft), durch Verdünnung mit Wasser auf die Konzentration von 1 gebracht.

3) Hefezuckerwasser. Neutrales Hefewasser nach Vorschrift[2]) mit Zusatz von 6 Proz. Saccharose.

4) Hefezuckerwasser (wie bei 3) + 0,5 Proz. Pepton Witte.

5) Hayducks Nährlösung.

Die Nährflüssigkeiten wurden in 75 ccm Erlenmeyer-Kölbchen in Mengen von je 20 ccm abgefüllt und $1/2$ Stunde im strömenden Dampf sterilisiert.

Nach mehrtägigem Stehen wurden die Kölbchen, und zwar immer in 2 Parallelkulturen, mit den Organismen geimpft. Letztere waren in Würze aufgefrischt worden und hatten sich bei 25° C innerhalb 3 Tagen kräftig entwickelt.

Das Impfmaterial befand sich nach der mikroskopischen Untersuchung in sehr gutem Zustande. Jedes Kölbchen erhielt je eine Platinöse aus dem Würzerest, der mit dem Absatz und der Haut der Sproßpilzkulturen gemischt war.

Die Kulturen wurden im Laboratorium aufgestellt und anfangs täglich, später in Zwischenräumen von mehreren Tagen während eines Monates durchgesehen. Die Fragestellung war hierbei folgende:

1) Innerhalb welcher Zeit erfolgt eine Entwickelung in und auf den verschiedenen Nährflüssigkeiten?

2) Welche Erscheinungen treten hierbei auf?

3) Hat die Nährlösung einen Einfluß auf die Form und Größe der Zellen und auf das Vorherrschen der einen oder der anderen Zellform?

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse der Beobachtungen folgende.

---

1) Vergl. auch die Abschnitte: Säurebildung und Säureverzehrung sowie Schwefelwasserstoffbildung.

2) Will, H., Hefewasser zur biologischen Analyse. (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. XXIV. 1901. p. 290. Anmerk.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Gehört zu den Arten, deren Entwickelung hauptsächlich auf der Oberfläche erfolgt, und es entstehen infolgedessen auch anfangs keine Absätze. Erst wenn die Haut größeren Umfang angenommen hat, fallen Teile von dieser zu Boden und stellen dann mehr oder minder starke, sehr lockere, farblose Absätze dar. Die Schnelligkeit, mit welcher sich die Art auf den verschiedenen Nährflüssigkeiten entwickelt, zeigt, abgesehen von der Hayduckschen, kaum Verschiedenheiten. Schon am zweiten Tage ist auf den Nährflüssigkeiten 1, 3 und 4 (s. oben) eine teilweise gefaltete, geschlossene Haut vorhanden. Am vierten Tage sind die Nährflüssigkeiten 1—4 von einer kreideweißen, fein gefalteten Haut überzogen; auf der Nährflüssigkeit 5 erscheinen zur gleichen Zeit erst ungemein zahlreiche, sehr kleine Hautinselchen.

Die Faltungen der Haut nehmen nicht zu, sondern gleichen sich mit fortschreitender Entwickelung der Haut wieder aus, so daß diese in älteren Kulturen (1 Monat) mit glatter Oberfläche erscheint.

Die Haut steigt an der Gefäßwandung empor, insbesondere in den Nährflüssigkeiten 3 und 4. Hier ist der Rand der Haut sehr deutlich zitronengelb gefärbt. Alle Nährflüssigkeiten bleiben klar.

Nährflüssigkeit 3 und 4 ist deutlich zitronengelb gefärbt und zwar 4 intensiver als 3.

Beim Oeffnen der Kulturen mit Nährflüssigkeit 4 schwach aromatischer Geruch.

Die Zellform wird durch die Zusammensetzung der Nährlösung nicht beeinflußt.

No. 6. Die Vermehrung ist in allen geprüften Nährflüssigkeiten eine sehr träge. Selbst in den Nährflüssigkeiten 3 und 4, welche anscheinend besser zusagten als 1 und 2, sind nach einem Monat die in dünner, gleichmäßiger Schicht ausgebreiteten, anfangs ziemlich fest (fast hautartig), haftenden, dichten, später lockeren und feinflockigen Bodensätze im allgemeinen nur mäßig.

Das Sauerstoffbedürfnis ist nicht so ausgesprochen wie bei der vorhergehenden Art. Wenngleich nämlich schon sehr frühzeitig (4. Tag), wenigstens in Nährflüssigkeit 1 und 2 Haut- und Ringbildung auftritt, so nimmt diese in keinem Falle selbst bei längerer Beobachtung (bis zu 1 Monat) einen größeren Umfang an. Die Hautinselchen fallen allerdings leicht zu Boden.

Keine Beeinflussung der Zellform; nur in Nährflüssigkeit 5 kommen auch langgestreckte, meist jedoch abnorm gewachsene Zellen vor.

No. 17. Die Entwickelung erfolgt hauptsächlich auf der Flüssigkeitsoberfläche, also in innigster Berührung mit der Luft.

Ein wesentlicher Unterschied in der Schnelligkeit der Entwickelung besteht zwischen den Nährflüssigkeiten 1—4 nicht. Sie ist im allgemeinen eine langsame und wurde erst am vierten Tage bemerkbar. Auf Nährflüssigkeit 2 ist die Hautentwickelung anfangs langsam, holt aber bald diejenige auf den anderen Nährlösungen ein; die vorliegende Art gleicht also in dieser Beziehung No. 11, der sie auch durch die matte, nahezu farblose Haut ähnlich ist. Die Haut bleibt selbst bei längere Zeit hindurch fortgesetzter Beobachtung dünn, da trotz des Lufteinschlusses zwischen den Zellen einzelne Teile derselben leicht zu Boden fallen und hier die anfangs nur geringen Bodensätze vermehren. No. 17 gleicht also auch in dieser Hinsicht No. 11. Die Absätze liegen ziemlich fest.

Die Flüssigkeiten blieben klar.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Pseudovakuolen in Hefezellen.

Von **J. J. van Hest.**

Mit 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

Die Vakuolen von Mycoderma enthalten nach den Beobachtungen von Will anscheinend kugelförmige, die ganze Vakuole ausfüllende Gebilde, deren Lichtbrechungsvermögen mit demjenigen des Cytoplasmas übereinstimmt und infolgedessen auch anfangs die Vakuolen nicht deutlich hervortreten läßt.

Trotz oben erwähnter Untersuchungen über Vakuolen, schrieb ich das Folgende als vorläufige Mitteilung in der Wochenschrift für Brauerei (9) „Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen, oder sind diese eine optische Täuschung?“

Zum besseren Verständnis dessen, was wir unter Vakuolen in Hefezellen verstehen, muß ich unter anderem auf den Atlas der mikroskopischen Grundlage der Gärungskunde von Prof. Dr. P. Lindner hinweisen. In den Abbildungen Didur, Calone, Canon, Cuba, Gebel u. s. w. findet man in den Hefezellen ziemlich große, schwarze, meistens runde Flecken oder Plättchen, welche, wenn ich mich nicht irre, allgemein als Vakuolen bezeichnet werden. Diese Flecken sind nach meinen Untersuchungen nur Schattenbilder der platten Seite der Hefezellen.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt mit Objektiv C (Zeiss, Paladino) und Kompensationsokular 18 (Zeiss, Pajato) mit Abbeschem Kondensor; die Irisblende muß ganz offen sein, und hierauf wird ein blaues Glas gelegt. Man kann auch arbeiten mit Apochromat f = 2 mm numerischer Apertur 1,30 (Siderant) und Kompensationsokularen 4,6 und 8; aber die schönsten Bilder erhält man mit schwachen Objektiven und starken Okularen. Als Lichtquelle wird eine elektrische Birne (115—150) und eine einfache Sammellinse benutzt. Das Lichtbündel läßt man nicht in den Kondensor fallen, sondern bringt es durch Drehen mit dem Spiegel an die Vorderseite der Objekttafel. Auf diese Weise sieht man die Hefezellen en relief, und diese sehen dann aus, als ob sie aus weißem Marmor ausgehauen seien. Vom Zellinhalt ist dann natürlich nichts zu sehen, aber desto besser sieht man den ganzen Umriß und die Oberfläche der Zellen.

Beim Arbeiten auf diese Weise fand ich unter den Hefezellen der Ober- und Unterhefe und in verschiedenen Sorten wilder Hefe regelmäßig Zellen, welche nicht ganz eiförmig oder rund, sondern an der Rückseite oder bei runden Zellen an einer Seite abgeplattet waren. Bei wilden Hefen sind manchmal ganze Verbände abgeplattet, und bei verschiedenen Zellen sind zwei Abplattungen nebeneinander. Im allgemeinen sind die meisten Mutterzellen abgeplattet, und, wenn die Mutterzelle eine platte Seite hat, so hat auch beinahe immer die Tochterzelle schon in sehr jugendlichem Alter diese Abplattung. Die Anzahl abgeplatteter Zellen ist sehr wechselnd; manchmal ist sie auffallend groß, dann wieder ziemlich klein. Die kleinste Anzahl, welche gefunden wurde, betrug immerhin noch 5—6 Zellen im Gesichtsfeld. Da die abgeplattete Seite meistens nach oben zu liegen scheint, stieg mir die Vermutung auf, die Abplattung könne durch den Druck des Deckgläschens auf die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zellen entstehen; untersucht man aber dieselbe Hefe in einem hängenden Tropfen, so findet man darin ebensogut abgeplattete Zellen wie in einem Präparat zwischen Objekt und Deckglas, so daß diese Vermutung unbegründet zu sein schien. Ebensowenig beseitigt das Waschen der Hefe diese Erscheinung, denn in ungewaschener Hefe ist die Anzahl abgeplatteter Zellen ebenso groß als in gewaschener. Bringt man gewaschene Hefe in Würze, dann bleibt die Anzahl abgeplatteter Zellen 20 Minuten, 3, 6, 9, 12, 24, 72 Stunden nach der Impfung prozentisch ebenso groß, als dies in der Anstellhefe der Fall war.

Um nachzuforschen, ob die Hefe unter den verschiedenen Umständen, in welchen sie in der Brauerei sich befindet, abgeplattete Zellen enthält, wurden nacheinander untersucht: Gewaschene und ungewaschene Anstellhefe, Hefe, zu verschiedenen Zeiten der Gärung entnommen, Hefe aus den Reinzuchtapparaten, Hefe aus den Bieren auf dem Wege zwischen Lager- und Transportfaß und Hefe aus den Kolonieen auf Plattenkulturen von Malzgelatine; in all diesen Hefen wurden abgeplattete Zellen gefunden. Ferner wurde bei diesen Untersuchungen wahrgenommen, daß die Oberfläche der Haut der Hefezelle im allgemeinen rauh oder grob ist und auch oft Unebenheiten aufweist, welche wie kleine Blattern aussehen und am ersten mit den kleinen Blattern auf unserer Haut zu vergleichen sind, welche wir „Sommersprossen" nennen. Manchmal trifft man Zellen an, welche ganz mit solchen Blattern bedeckt sind und die dann aussehen, als ob eine große Anzahl kleiner Hagelkörner auf einem Haufen zusammenliegt. Die Farbe der Zellhaut ist meistens hellbraun, manchmal auch graubraun.

In der Abplattung kann man manchmal ein kleines Körperchen beobachten, welches sich schnell hin und her bewegt. Diese Bewegung würde man Brownsche Molekularbewegung nennen können; doch das Körperchen ändert seinen Platz manchmal sehr schnell. Meistens findet man es in der Mitte der Abplattung, dort tanzt es in zitternder Bewegung einige Zeit hin und her, um danach, in einigermaßen weitem Zirkel um das Zentrum — aber immer zitternd — seinen Platz zu wechseln. Manchmal kehrt es wieder zum Zentrum zurück, manchmal auch bleibt es eine Zeitlang auf dem einen oder dem anderen Punkt, erst auch in zitternder Bewegung, hört endlich mit der Bewegung auf und bleibt dann still auf diesem Platze liegen.

Um zum Schlusse noch zu beweisen, daß die vermeintlichen Vakuolen nichts anderes sind als das Schattenbild der platten Seiten der Zellwand, wurde in einem mikroskopischen Präparat, in welchem die Zellen gut isoliert lagen, eine der abgeplatteten Zellen mit dem Auge fixiert; danach wurde der Spiegel so gedreht, daß das Lichtbündel in den Kondensor fiel, und nun sah man in derselben Zelle wieder die sogenannte Vakuole zum Vorschein kommen; ebenso wurde eine Zelle ohne Vakuole fixiert und der Spiegel versetzt. Die Zelle blieb ohne Vakuole, aber sie war auch nicht abgeplattet.

Ich kam durch diese Untersuchung zu der Schlußfolgerung, daß die sogenannten großen Vakuolen eigentlich keine Vakuolen sind, sondern daß dieses Vakuolenbild nur das Schattenbild der platten Seite der Zelle ist. Der Rand der platten Seite läßt bei durchfallendem Licht einen dunklen Ring sehen, der Zellinhalt ist infolge der Abplattung minder dick und daher besser durchsichtig als an anderen Stellen, woraus zu erklären ist, daß wir so lange einer optischen Täuschung zum Opfer gefallen sind." Soweit die vorläufige Mitteilung. Bei fortgesetzter Unter-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchung stellte ich mir wohl die Frage: Bin ich nicht selbst einer optischen Täuschung zum Opfer gefallen?

Um diese Frage beantworten zu können, lag es für mich auf der Hand, dieselbe in drei Teile zu zerlegen:

1) Wie werden die Objekte beleuchtet?

2) Sind die eigentlichen Formen der Objekte auch wirklich so, als wir sie bei durchfallendem Licht sehen?

3) Sind die Bilder oder Formen, welche wir bei durchfallendem Licht in Hefezellen beobachtet haben, Vakuolen oder Pseudovakuolen?

1) Schlägt man zurück in der Geschichte der Mikroskope von Van Leeuwenhoek bis auf heute, so finden wir stets eine fortschreitende Verbesserung der Linsen, Stative und Beleuchtungsapparate. Lassen wir die mehr oder minder kunstfertige Bearbeitung der Zubehörteile beiseite. so sehen wir, daß bei der Anfertigung der Mikroskope nach zwei Richtungen hin gearbeitet ist. Erstens um das Vergrößerungsvermögen zu erhöhen und zweitens um die Beleuchtung der zu untersuchenden Objekte zu verbessern.

Daß nach der letztgenannten Richtung hin das Höchste noch nicht erreicht ist, zeigt sich wieder deutlich im Ultramikroskop. Hierbei ist das Vergrößerungsglas — das Mikroskop — hauptsächlich dasselbe geblieben, dagegen sind wir im stande, durch eine gewisse Beleuchtung der Objekte die Anwesenheit von Objekten zu beobachten, welche unter der Auflösungsgrenze der gewöhnlichen Mikroskope liegen. Durch diese Beispiele wird es mehr und mehr deutlich, daß zur genauen Beobachtung sehr kleiner Objekte neben einem guten Vergrößerungsglas (Mikroskop) auch eine gute und richtige Beleuchtung dieser Objekte nötig ist, und mehr noch, daß man sich Rechenschaft darüber gibt, wie die Objekte in dem Augenblick, in dem man sie beobachtet, beleuchtet sind. Dies ist auch bei dem Studium der niederen Organismen von Wichtigkeit. Hierbei trachtet man danach, auswendige Formen der Zellen und auch die Formen und Verrichtungen ihrer inwendigen Organe kennen zu lernen.

Um größere Objekte genau zu studieren, betrachten wir diese von allen Seiten; wir drehen bald diese, bald jene Seite der Lichtquelle zu, wir studieren die verschiedenen Schattenbilder, und aus diesem gesammelten Material kommen wir zum Schlusse zu einer reinen Wissenschaft des Aussehens des Objektes. Ist das Objekt ein organisiertes Wesen, dann öffnen wir dasselbe und betrachten die Formen und Lagen der verschiedenen Organe, um danach den inneren Bau und die Zusammensetzung neben den Verrichtungen eines jeden einzelnen Organes zu studieren.

Die Kenntnisse, welche wir auf diesem Wege über größere Objekte erworben haben, suchen wir auch von den niederen Organismen zu ererhalten, dabei stoßen wir jedoch auf große Schwierigkeiten. Aus den Schattenbildern, welche in unser Auge geworfen werden, müssen wir uns eine Vorstellung machen, wie das Objekt ungefähr aussehen muß und welche Form es haben kann. Von einem Aufschneiden und Zerlegen der inneren Organe kann ganz und gar keine Rede sein.

Die Beleuchtung größerer mikroskopischer Objekte brachte niemals Schwierigkeiten mit sich. Bei den Mikroskopen von Jansen war der Abstand von Objektiv und Objekt wegen des geringen Vergrößerungsvermögens so groß, daß das Licht ungehindert auf das Objekt fallen und dieses also mit auffallendem Licht betrachtet werden konnte.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Van Leeuwenhoek fand schon als erster die ungenügende Beleuchtung und infolgedessen auch die Unvollkommenheit der genauen Betrachtung der kleineren Objekte. Solange seine Untersuchungen sich auf Insekten, Würmchen, Flügelchen und andere Organe von Tieren und Pflanzen beschränkte, sah er diese mit auffallendem Licht, so wie er gewöhnt war, alle größeren Objekte zu sehen. Die Anwendung von durchfallendem Licht — Van Leeuwenhoek stellte das Mikroskop zwischen sein Auge und die Lichtquelle — bei durchscheinenden Körpern war noch ein Gewinn, weil er dadurch einen Teil der inwendigen Bauart und der Organe wahrnehmen konnte. Waren hierbei die Schattenbilder manchmal zu unvollkommen, um daraus eine ungefähre Vorstellung von dem wirklichen Wesen der Objekte zu erhalten, so wußte er doch immerhin schon durch seine Untersuchungen mit auffallendem Licht, mit welchen Objekten er zu tun hatte und war dadurch vor verkehrten Folgerungen gesichert. Dies änderte sich jedoch vollständig, nachdem er einmal die Bakterien entdeckt hatte. Hierbei verfiel die Betrachtung seiner Objekte mit auffallendem Licht, aber hiermit verfielen auch zu gleicher Zeit die bewunderungswürdigen genauen Beschreibungen und Abbildungen, welche er stets von all seinen untersuchten Objekten gab. Seine Abbildungen von Bakterien sind doch eigentlich nichts anderes als ein Zirkel für Mikrokokken, ein längliches Viereck oder Trapez für Bacillen und weiter Linien, welche in gleichem Sinne den Umfang für Spirillen angeben. Nur bei den Wein- und Bierhefezellen erinnert die Zeichnung einigermaßen an einen kugel- oder eiförmigen Körper. Van Leeuwenhoek schien auch mit einer so geringen Kenntnis seiner Objekte durchaus nicht zufrieden zu sein und suchte nach Mitteln, um darin Verbesserung zu bringen. Dieses Mittel war ein hohles Metallspiegelchen, welches er unten an den Objektiven befestigte. Die durchfallenden Lichtstrahlen, welche in das Spiegelchen fielen, wurden da zurück und auf das Objekt geworfen. Bei größeren Objekten gibt dieses Spiegelchen wirklich eine bessere Beleuchtung der Oberfläche des Objektes, ist jedoch bei sehr kleinen Objekten gänzlich unbrauchbar.

Der Vertikal-Illuminator ist besonders geeignet für Objekte, welche das Licht zurückwerfen, ist aber in seiner gegenwärtigen Konstruktion weniger oder gar nicht geeignet für durchscheinende Körper. Soviel mir bekannt ist, existieren keine Hilfsmittel, um Hefezellen und Bakterien mit auffallendem Licht zu beleuchten, und ich fand es daher nicht ohne Wichtigkeit, die schon angedeutete Methode der Oberflächenbeleuchtung mitzuteilen. Obgleich man nun nach der angegebenen Methode kein auffallendes Licht im wahren Sinne des Wortes erhält, zieht man die Objekte doch, als ob sie wirklich von oben beleuchtet wären, währenddem die Beleuchtung in Wirklichkeit nur „Seitenbeleuchtung" ist, wie aus nebenstehender Figur 3 deutlich werden wird. Die Lichtstrahlen *l* und *l'* streichen unter gewöhnlichen Umständen kreuzend über das Objekt *b* hin und beleuchten es durch die konvergierenden Strahlen, welche von *l* und *l'* ausgehen, von allen Seiten; außerdem kommt noch eine kräftige Beleuchtung von unten, so daß die Beleuchtung da so stark wird, daß man das Objekt *b*, wenn es z. B. nicht gefärbte Hefezellen oder Bakterien sind, überhaupt nicht mehr sieht. Man nimmt daher bei der Untersuchung ungefärbter Hefezellen oder Bakterien den Abbeschen Kondensor weg oder stellt ihn außer Wirkung, indem man ein Diaphragma C (Fig. 1) anbringt. Dadurch kann nur ein kleiner

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Teil des Lichtbündels bis zum Objekt durchdringen und dieses wird dann auch ausschließlich von unten beleuchtet (durchfallendes Licht).

Bringt man dagegen an Stelle des Diaphragmas C Diaphragma a (Fig. 2) an, dann erreicht nur ein kleiner Teil des Lichtbündels *l'* (Fig. 2) das Objekt und zwar so, daß der größte Teil des Lichtbündels in schiefer Richtung über das Objekt streicht und dieses mit Hilfe der konvergierenden Strahlen seitlich und von oben beleuchtet wird. Indem man nun ein schwaches Objektiv gebraucht, wird der Abstand zwischen Kondensor und Objektiv größer, folglich das Lichtbündel, welches über das Objekt hinstreicht, länger und die Beleuchtung der Oberfläche vollkommener. Die geringere Vergrößerung eines schwachen Objektivs muß man natürlich durch stärkere Okulare auszugleichen suchen, um die verlangte Vergrößerung zu erhalten. Die schönsten Bilder erhält man mit Objektiv C (Zeiss, Paladino) und mit den Kompensationsokularen 8—18. So wie in der ersten Mitteilung angegeben ist, wird derselbe Lichteffekt auch erhalten, wenn man beide Diaphragmas wegläßt und den Spiegel so dreht, daß der Lichtstrahl *l* da, wo jetzt der Lichtstrahl *l'*, in den Kondensor fällt. Der Gebrauch des Diaphragma a hatte also keinen anderen Zweck, als den Lauf der Lichtstrahlen zu untersuchen.

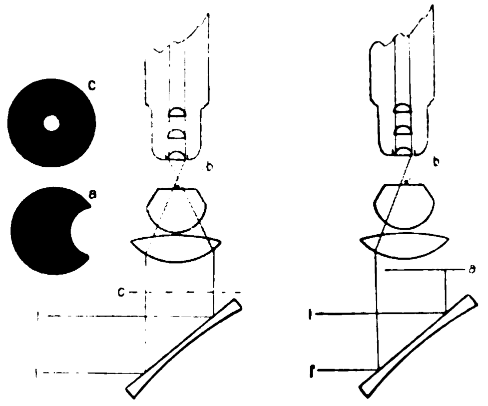


Fig. 1. Fig. 2.

Durch die bei den Untersuchungen gemachten Erfahrungen schien mir weiter, daß man bei jedem gewöhnlichen Mikroskop das Licht so regeln kann, daß es in schiefer Richtung von unten nach oben über das Objekt hinstreicht. Ferner wissen wir aus unseren täglichen Erfahrungen, daß alle Objekte, welche für das unbewaffnete Auge sichtbar sind, und über welche ein Lichtstrahl hinstreicht, genug beleuchtet werden, um alle Details, Formen, Farbe, Masse u. s. w. sehen zu können. Was für größere Objekte maßgebend ist, gilt auch für die kleineren. Daß wir für die letzteren unser Auge bewaffnen müssen, tut der Beleuchtung keinen Abbruch. Hat man also die Sicherheit, daß die Objekte — in diesem Fall speziell die Hefezellen — von oben beleuchtet werden, dann kann man sicher sein, daß das, was man wirklich an der Hefezellhaut wahrnimmt, keine optische Täuschung ist.

2) Mit der oben angegebenen Manier von Beleuchtung stehen wir nun gegenüber der Hefezelle so, wie ungefähr gegenüber dem Mond. Den Mond können wir als Scheibe und als Kugel sehen, ebenso sehen wir die Hefezelle als Scheibe und als Kugel. Der Mond, als Scheibe betrachtet, war Gegenstand langdauernden Studiums; der Mond als Kugel öffnete den Weg einer langen Reihe neuer Beobachtungen. Die beobachteten Erscheinungen, Formen, Bilder u. s. w. an der Scheibe, verglichen mit den Formen und Bildern auf der Kugel, können zu einer genauen Scheidung der Scheinbilder und Formen von den wirklichen Bildern und Formen führen. Bei den Hefezellen zeitigt dieser Vergleich wichtige Resultate. Die Hefezelle in Kugelform, genau betrachtet, läßt viele Einzelformen der Zellmembran deutlich sehen, und welche Schatten-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bilder diese Einzelformen bei durchfallendem Licht geben werden, läßt sich schon annähernd feststellen. So gibt z. B. ein Eindruck in die Zellmembran als Schattenbild einen dunklen Ring, welcher durch die Lichtbrechung dieser faltigen Haut entsteht; der Raum zwischen dem Ring ist mehr durchscheinend, als die übrigen Teile der Hefezelle, was aus der Tatsache zu erklären ist, daß an der Stelle, wo die Membran einfällt (den Eindruck hat), weniger Zellinhalt ist, und dieselbe dadurch dünner ist, als an anderen Stellen. Ist die eingedrückte Stelle der Zellmembran noch ein wenig faltig, dann läßt das Schattenbild manchmal helle und dunkle Streifen sehen; es entstehen natürlich bei jeder abweichenden Form der Zellmembran, d. w. s. wenn sie anders ist als gleichmäßig gestreckt oder gespannt, zahlreiche Schattenbilder, welche für die Hefezelle als lebendes Wesen keine Bedeutung haben, doch Ursache werden können, daß der Beobachter, wenn er nicht weiter geht als bis zur Betrachtung der Scheibchen, diese Schattenbilder als inwendige Organe der Hefezelle betrachtet.

Sogar die Umstände, unter welchen die Hefezelle geboren und aufgewachsen ist, können andere Schattenbilder und ein anderes Aussehen der Zellhaut zu stande bringen.

Nährt man z. B. die Hefezelle in einer Flüssigkeit, welche allerhand Formen fester, schwebender Stoffe enthält, z. B. in sehr trüber Bierwürze, dann ist nach kurzer Zeit die Zellmembran mit zahlreichen kleinen Stoffen besät. Solche Hefezellen geben natürlich, sowohl bei durch- als bei auffallendem Licht, ein einigermaßen abweichendes Bild. Dieses Bild verschwindet wiederum, wenn man solche Hefe mit Wasser behandelt, wäscht.

Betrachtet man nacheinander Kartoffelstärke mit durchfallendem Licht und mit auffallendem Licht, so sieht man im ersten Falle die bekannten zentrischen Ringe um einen Mittelpunkt liegen, und im zweiten Falle sieht man einen rundlichen Körper, welcher lagenweise aufgebaut ist, anfangend an der Außenseite und von da lagenweise bis zu einem höchsten oder Endpunkt aufsteigend. In vielen Körnern sieht man außerdem noch eine eingedrückte Zeichnung an der Oberfläche.

Der große Unterschied, wie man ein Objekt betrachtet, ist hier deutlich ins Auge fallend. Bei durchfallendem Licht sehen wir Ringe, entstanden durch das Schattenbild der dickeren Teile der Ringe, und bei auffallendem Licht sehen wir Stärkelagen ebenso deutlich, als ob wir eine Seemuschel in der Hand hätten. Im ersten Falle sehen wir Ringe und schließen daraus auf Lagen; im zweiten Falle sehen wir die Lagen deutlich vor uns liegen und können alle weiteren Betrachtungen beiseite lassen.

Bei Kartoffelstärke sehen wir — mit durchfallendem Licht — manchmal neben den genannten zentrischen Ringen Schattenbilder von allerlei Formen. Reibt man die Stärkekörner ein wenig fein, dann wird die Anzahl der abnormalen Figuren größer. Betrachten wir nun solche Objekte mit auffallendem Licht, dann sehen wir, daß viele Körner einfach beschädigt sind. Von vielen sind Stückchen abgebrochen, manche liegen in zwei Hälften, andere sind ungefähr dreieckig geworden u. s. f.; alle diese beschädigten Körner brechen das Licht bei durchfallender Beleuchtung natürlich anders, als unbeschädigte Körner und lassen dadurch allerhand Figuren sehen. Wenn nun sogar die mindeste Beschädigung der Wand eines Stärkekornes ein Bild hervorbringt, welches von dem zu untersuchenden Objekt ganz abweichend ist, dann ist die Warnung be-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rechtigt, daß man beim Studium noch kleinerer Objekte mit durchfallendem Licht äußerst vorsichtig sein muß.

Drücken wir z. B. einige Male auf das Deckglas eines mikroskopischen Präparates von Kartoffelstärkekörnern, dann sehen wir, daß viele Körner plattgedrückt sind. Die Ränder dieser plattgedrückten Körner haben sich jedoch nach Aufhebung des Druckes wieder zum Teil hergestellt, während ein ziemlich großes Zentrum der Zelle zusammengedrückt bleibt. Betrachtet man nun solche Körner mit durchfallendem Licht, dann sieht man den Rand an der Außenseite mehr oder weniger geteilt und ziemlich undurchsichtig, währenddem die Mitte des Kornes einen ziemlich großen, ungefähr runden Kern zeigt, welcher sehr durchsichtig ist und dadurch viel Uebereinstimmung mit Vakuolen in Hefezellen besitzt. Färbt man die Stärke blau mit Jodlösung, dann sind die Ränder der plattgedrückten Körner intensiv blau, während dagegen ein großer Kern in der Mitte des Kornes nur schwach blau gefärbt ist. Betrachten wir nun solche Körner gefärbt mit auffallendem Licht, dann sehen wir in beiden Fällen, daß der Rand höher liegt als ein großes Mittelteil und auf diese Weise ungefähr dieselbe Erscheinung aufweisen als die Vakuolen in den Hefezellen. Aus solchen vergleichenden Untersuchungen, von denen hier nur ein paar Beispiele mitgeteilt sind, glaube ich schließen zu dürfen, daß man mit der angegebenen Weise von Beleuchtung — der Kürze halber auffallendes Licht genannt — bei vielen kleinen Objekten ausmachen kann, wie sie wirklich äußerlich sind, so daß zum Schlusse das auffallende Licht in vielen Fällen eine Korrektur des durchfallenden Lichtes werden kann.

3) Sind die Bilder oder Formen, welche bei durchfallendem Licht in Hefezellen wahrgenommen werden, Vakuolen oder Pseudovakuolen?

Unter Vakuolen oder Pseudovakuolen verstehen wir hier Bilder von 2,5 bis 10 $\mu$, welche bei einer 300fachen Vergrößerung in ungefärbten Hefezellen noch deutlich sichtbar sind. Der Umfang der Vakuolen ist im allgemeinen mehr oder weniger rund, manchmal an einer Seite abgeplattet.

[Um Irrtümern vorzubeugen, sei hier darauf hingewiesen, daß unter Abplattung der Hefezellen nicht die Abplattung des Umfanges der Vakuolen zu verstehen ist, wie solche in Fig. 3 unter *d* abgebildet sind, ebensowenig die halbrunde Abplattung, welche man in Fig. 4 unter *e* sieht, denn dieses deutet den Platz an, wo die Tochterzelle gesessen hat. Ferner habe ich an Stelle des Wortes „Abplattungen“ oft „Pseudovakuolen“ gebraucht.]

Dieser Umfang ist jedoch durchaus nicht konstant, sondern ist bei ein und derselben Hefensorte Veränderungen unterworfen. Die Umstände, welche auf diese Formveränderungen Einfluß haben, sind noch ganz unbekannt, aber sie sprechen doch stark für meine Meinung, daß es keine Vakuolen sind, sondern einfach ein willkürliches Einfallen der Membran, wodurch auch willkürliche Grenzen entstehen. In Fig. 3 sind unter *a* und *b* die Umfänge der Pseudovakuolen in Oberhefe wiedergegeben. Diese Umfänge sind aus e i n e m mikroskopischen Präparat von Oberhefe genommen, welche achtmal in frischer Würze geführt war. Diese Hefe gab, in Bierwürze geführt, eine gute Hefenernte, vergor kräftig und erreichte den gewünschten Vergärungsgrad, so daß sie aus dem praktischen Gesichtspunkt sowohl biologisch als physiologisch als normal betrachtet werden konnte.

Von welch großem Umfang die Abplattungen sein können, ist deut-



Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

lich aus Fig. 3 unter *c* und *c'* zu sehen. *c'* hat ungefähr die gewöhnliche Größe, während sie in *c* ungefähr die ganze Oberfläche der Zellen einnehmen. Merkwürdig war es, daß in diesem mikroskopischen Präparat alle Zellen nur eine Abplattung hatten, während es manchmal vorkommt, daß sie 3, 4 und bis 6 haben. Wie es scheint, findet man die kleinen Eindrücke nur im Beginn der Pseudovakuolenbildung. Hat eine Hefezelle 4 oder 5 dieser kleinen Eindrücke, dann sieht man sehr bald, daß die Membran zwischen zwei Eindrücken einfällt, und so

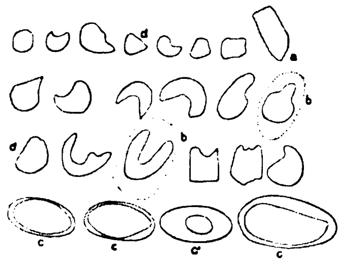


Fig. 3.

Fig. 4.

entsteht von zwei kleinen ein größerer, welcher dann natürlich so groß ist, als die zwei kleinen Eindrücke zusammen waren plus dem Raum, welcher zwischen den beiden war. So geht dies fort, bis alle kleineren ein großer Eindruck geworden sind und dann im allgemeinen mehr einer abgeplatteten Fläche als auf einen Eindruck gleichen (siehe Fig. 4 *f* und *f'*).

Vergleicht man nun meine Resultate mit denen obengenannter Forscher, dann findet man darin in vieler Hinsicht eine merkwürdige Uebereinstimmung zwischen den beobachteten Erscheinungen, woraus deutlich wird, daß wir alle denselben Gegenstand oder denselben Teil der Hefezelle studiert haben, keineswegs dagegen, ob die Vakuolen in Hefezellen wirklich Vakuolen oder Pseudovakuolen sind. Ein endgültiger Beweis ist meines Erachtens noch nicht geliefert und wird nicht oder nur sehr schwierig zu liefern sein, denn es ist großenteils eine Sache von Beobachtung, von Sehen und Umschreibung des Wahrgenommenen. In meinem Falle sah ich Hefezellen, welche von oben abgeplattet waren. Ich sah sie späterhin täglich, mit Ausnahme einiger Wochen, und zwar schon seit $1^1/_2$ Jahren. Elf Personen habe ich dieselben sehen lassen und bat sie, mir das Gesehene zu beschreiben; alle kamen zu derselben Erklärung: nämlich runde und ovale Körperchen, von denen manche von oben einen Eindruck hatten oder abgeplattet waren. Von Glaserkitt machte ich Formen gleich denen großer Hefezellen, brachte sie unter Papierhülsen und beleuchtete sie auf verschiedene Manieren. Ebenso nahm ich durchsichtige Kapseln, welche mit einem klaren Oel gefüllt waren und worin sich eine Luftblase befand, wodurch sie als vergleichendes Objekt gute Dienste leisten konnten. Alle diese Versuche verstärkten noch die Wahrheit meiner Beobachtungen bei auf- und durchfallendem Licht. Auch bei der Untersuchung mit dem Vertikal-Illuminator (also mit auffallendem Licht) sah man deutlich, daß viele Zellen abgeplattet waren. Wirft man eine runde hölzerne Kugel, welche an einer Seite abgeplattet ist, in das Wasser, dann kommt sie mit der abgeplatteten Seite nach oben zu liegen. Taucht man sie wiederholt unter Wasser, stets sieht man wieder dasselbe Bild. Dasselbe schien der Fall zu sein mit abgeplatteten Hefezellen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hat man lebende Hefe in Wasser zwischen Objekt-[1]) und Deckglas und kehrt das Präparat um, d. w. s. mit dem Objektglas nach oben, dann liegen die Zellen immer mit der abgeplatteten Seite nach oben, kehrt man das Präparat um, dann kehren sich die Hefezellen ebenfalls um. Mischt man Hefe mit geschmolzener Gelatine und gießt diese zu einer Platte aus, dann bleiben die Hefezellen nach dem Gerinnen s. g. fixiert liegen. Macht man nun Schnittpräparate von dieser Gelatine in verschiedenen Richtungen, dann kann man die Zellen von allen Seiten betrachten. Das Wichtigste dieser Untersuchung war, daß in einem horizontalen Schnitt in die Gelatine der größte Teil der Hefezellen mit der abgeplatteten Seite nach oben lag. Der kleinste Teil der abgeplatteten Zellen hat wahrscheinlich keine Zeit mehr gehabt, sich umzuwenden, bevor dies durch das Gerinnen der Gelatine verhindert wurde. Es wurde lange nach einer Zelle gesucht, welche mit der Abplattung auf der Seite lag, und wurde diese endlich auch gefunden. Die Abplattung war jedoch durch die Gelatine hin nicht so deutlich sichtbar, wie anfangs erwartet wurde. In einem gewöhnlichen mikroskopischen Präparat glückt es nur selten, daß man eine Hefenzelle mit der Abplattung auf der Seite liegen sieht, denn dieselbe kehrt sofort die platte Seite nach oben. Bringt man in einem mikroskopischen Präparat von Hefezellen, durch Strömung in der Flüssigkeit die Hefezellen in rollende Bewegung, dann bleibt im allgemeinen die platte Seite oben liegen. Ein einzelnes Mal, wenn eine stillliegende Zelle plötzlich durch die strömende Flüssigkeit angegriffen und ins Rollen gebracht wird, hat man Gelegenheit, die Abplattung auf der Seite liegen zu sehen.

Bei all den vorigen Untersuchungen wurde stets mit lebender und ungefärbter Hefe gearbeitet, weil tote und gefärbte Hefe wieder ganz andere Bilder hervorbringt.

Impft man von einer kräftigen Kultur Oberhefe auf alkalische Fleischgelatine und läßt sie bei 24° C stehen, dann bildet ein Teil der Zellen Sporen, währenddem der übrige Teil abstirbt. Betrachtet man die abgestorbenen Zellen unter dem Mikroskop, dann ist der Zellinhalt im allgemeinen in scheinbar kleine Körnchen geteilt; die Zellmembran liegt als ein äußerst dünnes Häutchen über diese Körner hin, wodurch die Zelle ein Aussehen erhält wie gespickelte Aniszuckerkörnchen. Bringt man ein wenig Wasser unter das Deckglas, dann sieht man veschiedene Zellen anschwellen, um darnach ihren ganzen Inhalt auszustürzen. Dieser Inhalt ist nicht gleich dem Inhalt von Zellen, welche in Flüssigkeiten abgestorben sind, d. w. s. ein mehr oder weniger zusammenhängendes Protoplasma, sondern es sind kleine Körnchen, welche durch eine kleine Oeffnung in der Zellmembran nach außen geworfen werden. Dieses Auswerfen geht enorm schnell vor sich; in einem kurzen Augenblick ist der ganze Inhalt aus der Zelle geworfen und fällt die Membran wie ein leeres Säckchen zusammen. Die ausgestoßenen Körnchen haben jedoch nur zum kleinsten Teil die Form von Körnern; die meisten sind längliche Nadeln, sehr ähnlich ganz kleinen Bacillen, von denen bei manchen die äußersten Ecken rechtwinkelig sind und bei anderen wieder die eine Seite rechtwinkelig ist und die andere eine Spitze besitzt.

Später schien es mir, daß Hefezellen unter dieselben Bedingungen gebracht werden können, indem man Kolonieen auf Malzgelatineplatten

1) In diesem Falle war das Objektglas so dünn wie das Deckglas.



Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

eintrocknen läßt. Die Verwesung[1]) des Zellinhaltes findet hier ebenso gut statt, wie bei Fortpflanzung auf Fleischgelatine. Läßt man ferner unter ein solches mikroskopisches Präparat ein wenig Fuchsinlösung fließen, dann entstehen wieder Reihen allerlei fremder Bilder. Eine Zellmembran, welche, ungefärbt gesehen, ganz leer erscheint, zeigt dieses Bild noch deutlicher, wenn die Membran schwach rot gefärbt ist; sie liegt dann deutlich wie ein leeres rotes Säckchen vor uns, ohne die geringsten Zeichen, die auf einen Zellinhalt oder etwas Derartiges schließen lassen. Ferner lassen die gefüllten Zellen eigenartige Formen sehen; jedoch die merkwürdigsten Bilder geben diejenigen Zellen, welche nur einen Teil ihres Inhaltes ausgestürzt haben. Bei diesen liegt die obere Seite der Zellmembran in allerhand Richtungen über den noch vorhandenen Zellinhalt hin und bringt dadurch vor allem bei durchfallendem Licht die verschiedenartigsten Bilder zum Vorschein.

Das methodische Färben der Hefezellen — Hefeverteilung in einem Tropfen Wasser auf dem Deckglas, trocknen lassen, dann durch Hitze fixieren, Färben mit Farbstoff und zum Schlusse den überflüssigen Farbstoff durch Wasser zu ersetzen — konnte nicht angewandt werden, um den Bau der Hefezellen näher kennen zu lernen. Gerade durch das Eintrocknen, Erhitzen und Färben kann die Form der Hefezelle so viele Veränderungen erfahren, daß sie für diese spezielle Untersuchung unbrauchbar geworden ist.

Färbt man trotzdem die Hefezellen, wenn sie im Wasser suspendiert sind, indem man ein wenig Farbstoff unter das Deckglas bringt, dann erhält man Bilder, welche wohl einige Bedeutung haben. Hält man z. B. einige Hefezellen in einem ungefärbten Präparat mit durchfallendem Licht im Auge und bringt dann eine 10-proz. Kaliumnitratlösung, mit Eosin tingiert, unter das Deckglas, dann verschwinden die Schattenbilder resp. die Vakuolen, und die Zellen sehen dann homogen gefärbt aus. Betrachtet man nun weiter diese Zellen mit auffallendem Licht, dann sind die Abplattungen noch deutlich zu sehen.

Färbt man auf diese Weise die Hefezellen mit sehr verdünntem Karbolfuchsin, dann werden die Abplattungen deutlicher sichtbar als in ungefärbten Hefezellen. Bei durchfallendem Licht ist der Zwischenraum zwischen dem Rand der Abplattung weniger intensiv rot gefärbt, als außerhalb dieses Randes, oder als die übrigen Teile der Hefezelle.

Verteilt man Hefezellen in konzentrierter Glycerin- oder in gesättigter Saccharoselösung, in Wasser, dann tritt in beiden Fällen bei einigen Zellen Plasmolyse ein. Hält man einige Zellen im Auge, welche von oben abgeplattet sind und bei denen schon Plasmolyse eingetreten war, dann sieht man anfangs bei den Abplattungen keine Veränderung hervortreten. Langsamerhand jedoch werden verschiedene Abplattungen schon kleiner und kleiner, bis sie bei den meisten Zellen verschwinden. Bei einigen Zellen bleibt die Abplattung trotzdem doch noch bestehen; so war z. B. in der Saccharoselösung bei einer einzigen Zelle Plasmolyse eingetreten, ohne daß die Abplattung verschwunden war (siehe Fig. 4 bei *g*). Hier war wahrscheinlich die Plasmolyse auf die eine oder andere Manier zerstört worden, wodurch die Spannung in der Zelle nicht groß genug geworden war, um den Eindruck in der Membran nach außen zu drücken.

(Fortsetzung folgt.)

1) In Reinkulturen von Hefe sieht man Hefe nach einer gewissen Zeit absterben und auseinanderfallen; dies habe ich „Verwesung“ genannt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. Universität zu Tokio.]

Von **K. Saito.**

Mit 5 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Wir kommen nun zu der biochemisch wichtigen Eigentümlichkeit in der Enzymwirkung bei Aspergillus Oryzae. Atkinson[1]) hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß das Koji eine kräftige Diastase aufweist. Später stellten Kellner, Mori und Nagaoka[2]) fest, daß das aus Reiskoji hergestellte Enzym Stärke in Maltose und Dextrin abspaltet, Rohrzucker kräftig invertiert und Maltose in Dextrose umwandelt, aber auf Milchzucker und Inulin keine Wirkung ausübt. Es ist also sicher, daß der Pilz außer Diastase noch Maltase und Invertase abzusondern vermag. Im Soyakoji konnte Takamuku[3]) Cytase nachweisen, während Newcombe[4]) dasselbe betreffs der „Takadiastase“ gelang. Nach Okumura[5]) und Aso[6]) scheidet er auch Oxydase aus. Ich habe schon mitgeteilt, daß Aspergillus Oryzae Trypsin[7]), Lab-, $\alpha$- und $\beta$-Katalase[8]) absondern kann.

Was den Einfluß der chemischen Agentien auf das Kojienzym anbetrifft, so ist schon von dem Verhalten desselben gegen Alkohol und verschiedene Säuren berichtet worden.

Um einen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Wirkung des Kojienzyms bei der Soyabereitung zu gewinnen, ist es dringend nötig, den Einfluß des Kochsalzes auf die enzymatische Wirkung des Kojipilzes klarzustellen. Schon Kellner, Mori und Nagaoka[9]) haben in dieser Hinsicht einige Versuche mit Reiskojidiastase mitgeteilt, doch stammte das dabei angewandte Enzympräparat nicht von einer reinen Pilzkultur her. Ich habe meine hier erwähnten Versuche stets mit Enzympräparat aus von mir reingezüchteten Kulturen angestellt.

In meiner Versuchsreihe in Bezug auf die Diastase wurde die auf dem gedämpften Reis entwickelte große Pilzmasse in ein grobmaschiges Sieb gebracht und lange Zeit einem starken Wasserstrome ausgesetzt, um sie möglichst von den Konidien zu befreien und die letzten Spuren von anhaftendem Reis zu entfernen, dann durch Pressen möglichst vollständig entwässert und im Schwefelsäureexsiccator getrocknet. Ein bestimmtes Quantum dieser Pilzmasse wurde mit einer kleinen Menge

---

1) Atkinson, R. W., Chemistry of sakétrewing. (Memoirs of Tokio Daigaku. 1881.)

2) Kellner, O., Mori, Y. und Nagaoka, M., Researches on the manufacture, composition and properties of „Koji“. (Bull. Coll. Agric. and Dendrol. 1889. No. 5. p. 9.)

3) Takamuku, On the enzyme of Soya koji and the prozess of Soya sauce ripening. (Japanisch). (Journal of the Tokyo chemical Society. 1898. Vol. XIX. No. 8. p. 787.)

4) Newcombe, F., Cellulose-enzymes. (Annals of Botany. Vol. VIII. 1899. p. 49.)

5) Okumura, G., Contributions to the chemistry of saké brewing. (Bull. Coll. Agric. Tokyo. Vol. III. 1897—98. p. 220.)

6) Aso, K., The chemical composition of the spores of Aspergillus Oryzae. (Ibid. Vol. IV. No. 1. p. 81.)

7) Saito, K., Eiweißzersetzung durch Schimmelpilze. (Japanisch.). (Bot. Magaz. Tokyo. Vol. XVII. 1903. p. 267.)

8) Derselbe, Labenzym und Katalase bei Aspergillus Oryzae. (Japanisch.) (Ibid. p. 276.)

9) Kellner, Mori und Nagaoka, loc. cit.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wasser in aseptischem Zustande digestiert. Diese wurde filtriert und von dem Filtrat das Enzym in üblicher Weise mit Alkohol abgefällt und der entstandene Niederschlag durch wiederholtes Lösen und Fällen möglichst gereinigt. Alsbald ging ich mit diesem Enzympräparat zur Untersuchung vor über das Verhalten desselben gegen Salz.

Nach Mischen von 5 ccm Enzymlösung mit 50 ccm 2-proz. löslicher Stärke[1]) fügte ich eine bestimmte Menge Kochsalz zu und füllte mit destilliertem Wasser bis zu 100 ccm auf. Alle Kolben standen 20 Stunden lang bei Zimmertemperatur, wonach die Flüssigkeiten abgekocht wurden, um eine weitere Wirkung zu verhindern. Nach Auffüllung derselben bis auf 100 ccm wurde der gebildete Zucker mit Fehlingscher Lösung titrimetrisch bestimmt; das Ergebnis ist im folgenden angegeben:

| Prozent des Kochsalzes | Menge des gebildeten Zuckers (als Glukose) in Milligramm | Relative Wirksamkeit des Enzyms |
|---|---|---|
| 0 | 556,4 | 100,0 |
| 2 | 459,2 | 82,5 |
| 5 | 414,9 | 74,6 |
| 10 | 63,1 | 11,3 |
| 15 | 46,4 | 8,3 |
| 17 | 45,0 | 8,1 |
| 20 | 42,2 | 7,6 |

Aus dieser Tabelle erkennt man, daß das Kochsalz auf die Kojidiastase hemmend einwirkt. Schon ein Gehalt von 2 Proz. Kochsalz setzt die Wirkung des Enzyms um ca. 20 Proz. herab, doch bei 20-proz. Kochsalzgehalt wird sie nicht vollständig sistiert. Es ist danach ohne weiteres klar, das die diastatische Wirkung des Koji während des ganzen Prozesses der Soyaherstellung stets unverändert fortbesteht, denn der Salzgehalt der Soya erreicht gewöhnlich nicht 20 Proz.

Um die Einwirkung des Kochsalzes auf Invertase klarzustellen, bediente ich mich eines Enzympräparats, welches von der auf Reis gewachsenen Pilzdecke in gleicher Weise wie bei Diastase hergestellt wurde. Einer 50 ccm Rohrzuckerlösung (5 Proz.) fügte ich eine bestimmte Menge Kochsalz hinzu, und nach Zusatz von 5 ccm Enzymlösung wurde mit destilliertem Wasser zu 100 ccm aufgefüllt. Alle Kolben standen 20 Stunden lang bei 25° C und wurde der gebildete Invertzucker auf übliche Weise mit Fehlingscher Lösung bestimmt. Die folgende Tabelle gibt die Resultate wieder:

| Prozent des Kochsalzes | Menge des gebildeten Invertzuckers in Milligramm | Relative Wirksamkeit des Enzyms |
|---|---|---|
| 0 | 658,7 | 100,0 |
| 2 | 581,2 | 88,2 |
| 5 | 537,0 | 81,5 |
| 10 | 345,5 | 52,5 |
| 15 | 130,0 | 79,7 |
| 17 | 79,7 | 12,1 |
| 20 | 65,0 | 9,9 |

Diese Tabelle zeigt uns, daß die invertierende Wirkung des Enzyms durch Kochsalz stark gehemmt, aber bei 20-proz. Zusatz des letzteren nicht ganz sistiert wird.

### b) Rhizopus japonicus Vuillemin nov. var. angulosporus.

(Fig. 1.)

Rasen locker, schwarz; Stolonen farblos oder schwarzbraun, stark verästelt. Rhizoiden braun, verzweigend, ohne Querwände, Sporangien-

1) Nach Lindners Verfahren hergestellt.

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

träger geradständig, braun gefärbt, zusammen mit den Rhizoiden an einem Knoten (1—6) oder bald einfache, bald regelmäßig verzweigte längere Träger an beliebigen Stellen des Ausläufers. Manchmal kommen kugelige Anschwellungen an den Trägern vor, woraus wieder ein oder mehrere Trägerfäden mit endständigen Sporangien hervortreten. Sporangien jung schneeweiß, später tief schwarzbraun, kugelig, verschieden groß, aufrecht. Sporangienwand anfangs leicht zerfließend, nachher aber erhärtend und brüchig werdend, mit feinnadeligen Kristallen bedeckt. Columella groß, aufsitzend, abgeplattet kugelig, oval oder birnförmig, anfangs farblos, später schwarzgrau bis braun, glattwandig und selten mit Basalkragen; Apophyse vorhanden, aber nicht deutlich. Sporen verschieden groß, in größerer Masse schwarzgrau oder schwarzbraun, vereinzelt hellgrau oder bräunlich, deutlich gestreift und in der Regel eckig oval gestaltet. Gemmen nicht zahlreich vorhanden, farblos, mit glatter farbloser Wand, meist kugelig oder oval. Zygosporen und Kugelhefen fehlen.

Wächst gut auf Reis, Würze, Kojidekokt etc. Der Reis wird durch diesen Pilz schnell und kräftig verflüssigt. In Salzkojidekokt kommt aber die Art nicht zur Entwickelung.

Größenverhältnisse:

| | | |
|---|---|---|
| Höhe der Rasen (Reis) | | 5 cm |
| Sporangienträger | Länge | 200—700 μ |
| | Breite | 12 μ |
| Sporangiendurchmesser | | 44—80 μ |
| Sporen | Länge | 12—18 μ |
| | Breite | 8 μ |
| Columella | | 20—56 μ |
| Gemmen | Länge | 16—40 μ |
| | Breite | 16—28 μ |

Die Keime von diesem Pilze finden sich stets reichlich gemengt in dem Koji und auch in der Maische. Durch die deutliche Streifung der Sporenwand und seine eckig-ovale Sporengestalt unterscheidet sich dieser Pilz leicht vom gewöhnlichen $\beta$-Amylomyces.

c) Tieghemella hyalospora nov. spec.
(Fig. 5.)

Rasen locker, grau; Stolonen farblos und verschieden verzweigt, aber nicht scharf ausgebildet und von den Fruchtträgern geschieden. Rhizoiden hier und da vorhanden, fast unverästelt, stets farblos, selten mit Querwänden. Sporangienträger gerade oder gebogen, schwarzgrau gefärbt, unregelmäßig baumartig verzweigt. Sporangien kugelig, grau, aufrecht. Sporangienwand zerbrechlich, warzig, mit Basalkragen. Columella mit der Apophyse kugelig, graulich, mit glatter Wand. Sporen oval oder selten kugelig, hyalin und farblos. Gemmen (Reiskultur) reichlich vorhanden, kugelig, von polygonaler bis unregelmäßiger Gestalt, hyalin, mit grobkörnigem Inhalt. Zygosporen und Kugelhefen unbekannt.

Diese Art entwickelt sich üppig auf Reis und der Kojidekoktgelatine. Verzuckert die Stärke nur schwach. Es kommt keine Entwickelung dieses Pilzes im Salzkojidekokt vor.

Größenverhältnisse:

| | | |
|---|---|---|
| Höhe der Rasen (Reis) | | 2 cm |
| Sporangienträger | Länge | variabel |
| | Breite | 4—8 μ |
| Sporangiendurchmesser | | 24—40 μ |
| Columella | | 10—32 μ |
| Sporen | runde | 4—10 μ |
| | ovale | (8—10) × 6 μ |
| Gemmen | | 30—60 μ |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Keime von diesem Pilze finden sich auch häufig im Koji und in der Maische. Die Eigenschaften desselben machen seine Unterscheidung von den bekannteren Arten Tieghemella Orchidis Vuillemin und T. japonica Aut. nicht schwer.

Diese und die letzte Art sollen in gutem Koji wenig oder gar nicht vorhanden sein, können aber zuweilen Aspergillus Oryzae ganz verdrängen.

d) Andere Schimmelpilzarten.

Unter anderen Schimmelpilzen, die sich aus Kojikörnern isolieren lassen, sind Penicillium glaucum und Cladosporium herbarum zu verzeichnen. Sie können sich in Salzkojidekokt auch allmählich entwickeln. Daneben kommt selten eine Oospora-Art zum Vorschein. Diese kosmopolitischen Pilze sind schon allgemein bekannt und bedürfen keiner weiteren Beschreibung.

## 2. Hefen.

### a) Soyahefe (Saccharomyces Soya nov. spec.).

(Fig. 4 und 8a.)

Von verschiedenalterigen Maischenexemplaren aus läßt sich diese Hefeart sehr leicht und zahlreich auf den Salzkojigelatineplatten isolieren. Diese Art ruft in zuckerhaltiger Flüssigkeit kräftige Alkoholgärung hervor und kommt in Salzkojidekokt wohl in üppiger Entwickelung vor[1]). Es ist im folgenden über die Eigenschaften des Pilzes etwas näher gehandelt.

I. Diagnostische Eigenschaften.

1) Mikroskopisches Aussehen. Diese Hefe besteht im allgemeinen aus relativ derbwandigen, kugelrunden oder ovalen Zellen. Die Größe der Zellen beträgt im Mittel 4—8 $\mu$. Der Zellinhalt scheint homogen, auch mit großen Vakuolen.

2) Plattenkultur. Auf der Oberfläche der Würze- oder Kojidekoktgelatine erscheinen die Kolonieen als kleine, runde, feuchtglänzende, grauweiße Punkte. Der Rand der Kolonieen ist glatt. Die tiefliegenden Kolonieen sind kreisrund oder wetzsteinförmig.

3) Riesenkolonie. Die Riesenkolonie ist graugelb gefärbt. Im Zentrum ist sie erhaben und die Oberfläche nicht glatt. Der Rand ist grob gekerbt.

4) Stichkultur. In Würzegelatine gestochen, wuchs der Kopf feucht graugelb. Die Stichlinie bekam selten ein körniges Aussehen.

5) Strichkultur. Die Strichkultur ist auch grauweiß, feuchtglänzend. Der Rand ist wellig gekerbt.

6) Tröpfchenkultur (nach Lindner). Nach 24 Stunden kleine Sproßverbände bildend; in den nächsten 24 Stunden vermehren sich die Zellen durch Sprossung und es tritt ein baldiger Zerfall ein.

7) Tropfenkultur (nach Lindner). Nach 24 Stunden kleine Sproßverbände bildend; weiteres gleich wie bei der Tröpfchenkultur.

8) Verhalten gegen verschiedene Kohlenhydrate (nach Lindner). Diese Hefenart vergärt Glukose, Fruktose, d-Mannose, d-Galaktose und Maltose sehr leicht, aber nicht Saccharose, Laktose, Melibiose, Raffinose, Inulin und $\alpha$-Methylglukosid. Es ist eine merk-

1) Mein Freund, Herr Eda, hat in einer Maische, die von einer anderen Brauerei herrührte, eine Hefeart in üppiger Fülle konstatiert. Mit seiner Erlaubnis war ich imstande, die Eigenschaften der Hefe eingehend zu untersuchen und kam zu dem Schlusse, daß sie nichts anderes als die von mir selbst isolierte Soyahefe sei.

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

würdige Tatsache, daß sie Invertase in Form vom Endoenzym enthielt. Näheres über diese Eigenschaft wird noch später erwähnt.

9) Sporenbildung. Die Hefe nach 24-stündigem Auffrischen in Bierwürze bei 25—30° C vermag nicht Sporen auf dem Gipsblocke zu bilden. Weiter wurden die Versuche mit Anwendung des Dextrosehefewassers [1]) oder des reinen Agars (bereitet nach Beijerincks Methode) [2]) mehrmals wiederholt, aber stets ohne Erfolg. Trotzdem findet man in den Zellen, welche an dem Hefering [3]) in Kojidekokt gewachsen sind, häufig reichliche Sporenbildung, die sich anscheinend mit Vorliebe in anormal gebauten Zellen vollzieht. Die Sporen sind kugelig, hyalin, 2,7—4,5 $\mu$ groß und enthalten sehr winzige Körnchen eingeschlossen; die Zellwand ist ziemlich derb. Ihre Zahl in einer Zelle schwankt zwischen 1 und 4.

10) Scheinbare Vergärung. Nach dem üblichen Verfahren wurde die scheinbare Vergärung in der Bierwürze bestimmt. 14° Balling sank mit dem Eintritt des Gärverschlusses bis zu 2° nieder. Es ergab sich daraus der Wert 86 für die scheinbare Vergärung.

11) Verhalten gegen Eintrocknen. Eine frische, in der Bierwürze entwickelte Hefemasse wurde nach völligem Waschen im Schwefelsäureexsiccator getrocknet. Die Hefezellen, welche in diesem Zustande 8 Monate lang gestanden hatten, entwickelten sich in Bierwürze wieder sehr kräftig und brachten die Alkoholgärung hervor.

## II. Vergleich der Soyahefe mit anderen Arten.

Ist nun diese Hefeart nichts anderes als eine gewöhnliche Sakéhefe? Morphologisch und kulturell ähnelt Saccharomyces Soya der Sakéhefe, doch gilt er als nova spec., weil die erstere Art im Gegensatze zu der letzteren Saccharose nicht vergärt und das Verhalten der Sporenbildung an beiden Arten einige Verschiedenheiten zeigt. Was die Sporenbildung anbelangt, so erfolgt sie bei frischer Sakéhefe schon nach 14-stündigem Stehen auf der feuchten Oberfläche der Gipsblöcke (30—32° C) [4]). Dagegen findet man unter gleichen Umständen nichts Aehnliches bei der Soyahefe, welche aber, wie gesagt, in normal gebauten Zellen an dem Hefering häufig Sporen enthielt.

Einen merkwürdigen Unterschied bietet das Verhalten der beiden Arten gegen Zucker. Unsere Kenntnis von der Sakéhefe in dieser Beziehung verdanken wir den Untersuchungen Kozais [5]) und Takahashis [6]), nach deren Angaben die Art Saccharose invertiert und vergärt. Die Soyahefe bringt in der Saccharoselösung keine Gasentbindung hervor.

Man könnte versucht sein, zu glauben, daß die Soyahefe, welche Saccharose nicht vergärt, auch keine Inversion erzeugt. Gerade das Gegenteil lehrt aber die Beobachtung, die aus ihrem Zellinhalte das

---

1) Nach Erfrischen der asporogenen Rasse des Saccharomyces Ludwigii in dieser Nährlösung konnte Hansen sogleich eine neue Generation erzielen, deren Zellen aufs neue reiche Sporenbildung gaben.

2) Beijerinck, M. W., Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen, wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 657.)

3) Eine Hautbildung trat selbst in 4 Monate alten Kulturen nicht ein.

4) Kozai, Y., Chemische und biologische Untersuchungen über Sakébereitung. (Centralblatt für Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 385.)

5) Kozai, Y., loc. cit.

6) Takahashi, Note on the enzymes of the Japanese saké yeast. (Bull. Coll. Agric. Vol. IV. p. 395.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Enzym nachweisen läßt. Die Hefenernte, welche in Bierwürze oder in Kojidekokt gewachsen ist, wurde auf Filterpapierblättern gesammelt und völlig gewaschen, um sie von anhaftendem Zucker zu befreien. Diese Hefemasse wurde im Schwefelsäureexsiccator getrocknet und sodann mit feinem Quarzsand so lange zerrieben, bis sich keine vollständige Hefezelle mehr finden ließ. Dann wurde das Pulver mit einer kleinen Menge Wasser digestiert und in zwei gleiche Teile geteilt, *a* und *b*; *a* wurde während kurzer Zeit aufgekocht, *b* blieb unverändert. Beiden Flüssigkeiten wurde eine gleiche Menge von reinem Rohrzucker und etwas Toruol zugesetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei 30° C gab das mit *a* versetzte Glas keine Reduktion der Fehlingschen Lösung, während bei *b* eine deutliche Reduktion bemerkbar war. An kleinen Teilen aus jeder der mit *a* und *b* versetzten Lösungen wurden wieder nach Lindners Verfahren die Gärversuche unternommen. Eine Gasentbindung fand bei derjenigen mit *b* statt, während sie bei *a* nie vorkam. Diese Tatsache bestärkt uns in der Ansicht, daß unsere Hefe, wenn sie auch keine Gärung des Rohrzuckers hervorbringt, innerhalb ihrer Zellen schon Invertin enthielt, welches aber nie von selbst herausdiffundiert.

Wir erkennen daraus, daß es in dieser Hinsicht Abstufungen in der Natur gibt. Denn die gewöhnlichen Hefezellen bilden, wie allgemein bekannt, Invertin, welches von den Zellen herausdiffundiert, und wodurch die Saccharose vergärt wird. Ganz anders ist das Verhältnis bei der Monilia candida, bei welcher wohl das Enzym wie bei Soyahefe außerhalb der Zellen nicht sezerniert, aber im Innern der Zellen der Rohrzucker abgespaltet und sogleich durch das Gärungsenzym (Zymase) verbraucht wird.

Im Gegensatz zu beiden Beispielen ist zu erwähnen, daß das Invertin von unserer Soyahefe nie aus den Zellen herausdiffundiert und auch Saccharose nicht vergärt wird. Im Anschluß an diese interessante Endoinvertase der Soyahefe sei noch der Enzymwirkung derselben gedacht, wie sie Van Laer[1]) kurz an einigen Sproßpilzen festgestellt hat. Er stellte fest, daß Saccharose nicht vergärende Hefen unter gewissen Bedingungen invertierende Wirkung entfalten und dabei die Saccharose nach einer im voraus kommenden Inversion alsbald zur Ernährung der Zellen dienen kann. Es besteht aber ein wichtiger Unterschied zwischen Soyahefe und den Van Laerschen Arten, indem unsere Art in Bouillon oder Hefewasser mit 10-proz. Saccharose nicht zur Entwickelung kommen kann, während sich in den Kontrollgläsern mit Dextrose ihr üppiges Wachstum und auch Gasentbindung bemerken lassen. Die Ursache der Nichtassimilierung von Saccharose dürfte vielleicht in dem Unvermögen des Eindringens der Saccharose in die Zellen zu suchen sein, während das Invertin aus den Zellen nicht austritt. Ueber analoges Verhalten ist bei Ernährung der Hefe mit Glykogen oft berichtet worden[2]).

Durch die Van Laerschen und unsere Untersuchungen ist es sehr wahrscheinlich gemacht, daß zukünftige Versuche gewissermaßen an viel anderen Sproßpilzen, welche nicht zum Vergären der Saccharose befähigt sind, deutlich spaltende Wirkung auf diesen Zucker nachweisen werden.

---

1) Van Laer, Henri, Sur quelques levures non inversives. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. No. 18—20. p. 550.)

2) Ueber Glykogenassimilierung vergl. man Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. I. 1905. p. 236.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Damit ist die Soyahefe von der Sakéhefe leicht unterscheidbar, doch haben wir unsere Art noch mit anderen Arten als Sakéhefe zu vergleichen. Berücksichtigen wir das Verhalten der Hefe gegen Zucker, so wird allerdings die Zahl der Arten, mit welchen sie verglichen werden muß, sehr beschränkt. Von sporenbildenden echten Saccharomyceten vergären die folgenden drei Arten die Maltose, aber nicht Saccharose, so daß sie in dieser Beziehung mit der Soyahefe nahe verwandt sind. Aber einige wichtige Punkte lassen die ersteren von der letzteren völlig unterscheiden.

1) Saccharomycopsis capsularis Schiönning. Die Endosporen dieses Pilzes besitzen zwei Membranschichten und es fehlt die Invertase.

2) Hefe aus Zuckerrohrmelasse [No. 570 in der Berliner Sammlung [1])]. Diese Art vergärt Galaktose nicht.

3) Hefe aus konzentriertem Traubenmost [No. 370 in der Berliner Sammlung [2])]. Diese Art ähnelt der Soyahefe in manchen Eigenschaften, unterscheidet sich aber von dieser dadurch, daß die erstere auf der Gelatineplatte mehlige Kolonieen bildet, in welchen stets reichliche, sporenhaltige Zellen vorhanden sind. Von letzterer Art wird die Raffinose nicht vergärt, welche aber die Hefe No. 370 vergären kann.

Wenn wir die Tatsache berücksichtigen, daß unsere Hefe sich in hochkonzentrierter Kochsalzlösung entwickeln kann, so finden wir, daß sie mit den oben erwähnten Hefen No. 370 und No. 570 und Saccharomyces Bailii Lindner [3]) in nächster Verwandtschaft steht. Alle letzteren sind durch ihr Vermögen, in hochkonzentrierter Zuckerlösung üppig zu vegetieren, ausgezeichnet.

Es muß nun geprüft werden, wie der Turgor der Soyahefezellen beim Uebertragen derselben in eine hochkonzentrierte Kochsalzlösung reguliert wird. Zum Zweck der Prüfung nahm ich ein Tröpfchen Wasser mit Hefen, welche auf dem Würzegelatinestrich 24 Stunden lang kultiviert wurden, und verfolgte nach Fischers Verfahren [4]) den Gang der Plasmolyse in Kochsalzlösung. Eine deutliche Abtrennung des Protoplasmas [5]) von der Zellwand wurde zuerst in 7,5-proz. (ca. 1,3 g Mol.) Lösung sichtbar. Die Plasmolyse in 7,5, 10, 15 und sogar 20-proz. Kochsalzlösung verschwindet an den meisten Zellen in 30 Minuten, nach 1 Stunde waren alle wieder deplasmolysiert, aber stark vakuoliert [6]).

Es ist schwer, zu entscheiden, ob sich bei dem Rückgang der Plasmolyse eine aktive Turgorsteigerung oder bloße Endosmose vollzieht.

---

1) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgeweben. 3. Aufl. p. 395.

2) Lindner, P., l. c. p. 395.

3) Lindner, P., l. c. p. 395.

4) Fischer, A., Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. w. Bot. Bd. XXVII. 1895. p. 1.)

5) Es ist durch die Untersuchungen von Pantanelli (Zur Kenntnis der Turgorregulation bei Schimmelpilzen. Jahrb. f. w. Bot. Bd. XL. 1904. p. 303) und von Swellengrebel (Ueber Plasmolyse und Turgorregulation bei Preßhefe. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 374) klargestellt, daß die mit der plasmolytischen Methode erhaltenen Werte nicht den osmotischen Druck selbst, sondern ein Gemisch dieser und anderer Drucke vorstellen.

6) Wir haben hierbei hinzuzufügen, daß bei den Hefezellen auf der Würzegelatine spärliche Glykogenreaktion auffiel. Das Glykogen wurde mit verdünnter Jodjodkaliumlösung nachgewiesen. Es steht im Einklang mit dem Resultate Swellengrebels (l. c.), daß die Zellen mit spärlichem Glykogen auch wohl eine Ausgleichung der Plasmolyse zur Folge haben kann.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie dem auch sei, bewegte sich der Zurückgang der Plasmolyse bei Hefen in dünneren und konzentrierten Lösungen in gleichem Tempo. Wenn wir den Wohnort dieser Hefeart berücksichtigen, so muß diese Eigenschaft für sie eine notwendige und biologisch charakteristische sein [1]).

Es bleibt noch die Frage nach der Herkunft der Soyahefe offen. Da die irrigen Beobachtungen von der Produktion der hefeartigen Sprossungen aus den Pilzfäden des Aspergillus Oryzae die Selbständigkeit der Gattung Saccharomyces nicht zu erschüttern vermögen, so muß für die Lösung der Frage eine Versuchsreihe von mikrobiologischen Analysen über Luft, Wasser, Salz u. s. w. unternommen werden.

### b) Saccharomyces farinosus Lindner (Fig. 2 und 8 c).

1) Mikroskopisches Aussehen. Die Zellen haben zum größten Teil recht langgestreckte Formen in typischen Sproßverbänden; in denselben kommen neben pastorianen Zellen auch ellipsoide vor. Selten begegnet man kopulierend aussehenden Individuen. In den Zellen beobachtet man große Vakuolen.

2) Gelatineplattenkultur. Die Kolonie auf der Würzegelatine sieht mehlig-weiß aus und ist kreisrund gestaltet.

3) Gelatinestrichkultur. Das Wachstum auf dem Würzegelatinestrich setzt schon in 24 Stunden ein. Die Oberfläche ist mehligweiß und fein gestreift. Der Rand ist fein gekerbt. Verflüssigung der Gelatine tritt ziemlich schnell ein.

4) Riesenkolonieen. Die Kolonie sieht mehlig-schneeweiß aus und zeigt die Oberfläche herrlichen Faltenwurf. Von der Mitte der Kolonie aus wird die Gelatine allmählich verflüssigt.

5) Kahmhaut. Auf der Oberfläche von Bierwürze oder Kojidekokt tritt schon nach 24 Stunden trockene, mehlig-weiße Kahmhaut auf, welche später sehr feine Falten zeigt.

6) Sporenbildung. An Sporen schließt eine Zelle 1—4 ein. Sie sind kugelig oder oval gestaltet, und führen in der Mitte ein glänzendes Kügelchen. Die Sporen kommen oft so dicht zusammengedrängt vor, daß man nur die Grenzlinien sieht.

7) Verhalten gegen Kohlenhydrate. Diese Art vergärt Glukose und Fruktose nur spärlich, aber niemals Maltose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Melibiose, Raffinose, Inulin und $\alpha$-Methylglykosid.

Aus allen diesen Eigenschaften schließen wir, daß diese Kahmhefe nichts anderes ist, als der von Lindner entdeckte Saccharomyces farinosus.

### c) Soya-Kahmhefe [2]) (Fig. 3 und 8 b).

1) Mikroskopisches Aussehen. Die Form der Zellen ist in der Regel rund oder oval. Mehrfach ist auch die Bildung eines langen Mycels vorhanden. Die Zellen treten meist in kurzen Sproßverbänden auf. Die Vakuolen sind gut sichtbar [3]).

---

1) Nach der Swellengrebelschen Untersuchung wird die Plasmolyse der Preßhefe in Natriumchloridlösung nicht ausgeglichen.

2) Herr Eda fand in der Maische auch diese Hefe.

3) Die Kahmhautzellen auf dem Salzkojidekokt sind meist fein netzartig gebaut.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Gelatineplattenkultur. Die Kolonie auf der Würzegelatine sieht gelblichweiß aus. Im Zentrum ist sie etwas erhaben, wölbt sich dann konkav zum Randteil, welcher sich erhebend weiter wächst. Der Rand der Kolonie ist glatt.

3) Gelatinestrichkultur. Auf der Strichfläche entwickelt sich eine grauweiße, gekröseartige, anfangs etwas trockene Auflage, unter welcher eine reichliche Gasentbindung stattfindet. Der Rand ist fein gekerbt. Später nimmt die Oberfläche allmählich eine tautropfenartig feuchte Beschaffenheit an.

4) Riesenkolonie. Die Kolonie ist erhaben, grauweiß und getrocknet. An der unebenen Oberfläche treten stellenweise Risse auf, und in einiger Entfernung ziehen sich um die erhabene Impfstelle konzentrische Ringe, die durch die nun zum Rande verlaufenden Längsrisse in zahlreiche Teile zerlegt werden. Der Rand zeigt wenige große Kerben. Unter der Kolonie finden sich viele kleine Gasblasen.

5) Kahmhaut. Nach der Impfung im Kojidekokt tritt anfangs eine mehlig-weiße Kahmhaut an der Oberfläche auf[1]). Unter der Decke sammeln sich schnell reichliche Mengen von Kohlensäure, und bald darauf nimmt die Kahmhaut, welche allmählich an Dicke zunimmt, eine gelbbraune Farbe an und zeigt gekröseartige Faltungen.

(Schluß folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden.

## Ein Beitrag zur Methodik der mikrobiologischen Bodenforschung.

Von **Harald R. Christensen**, Kopenhagen.

Mit 4 Figuren im Text.

Nachdem Beijerinck im Jahre 1901 die stickstoffbindende Bakterie Azotobacter chroococcum reingezüchtet und beschrieben hatte[2]), haben verschiedene Forscher, und unter diesen nicht zum wenigsten Beijerinck selbst und seine Mitarbeiter[3]), diesen interessanten Organismus einem eingehenden Studium unterzogen.

Von besonderer Wichtigkeit war es, über die Verbreitung des Azotobacter in verschiedenen Böden Aufklärung zu erhalten, und teilt Beijerinck hierüber mit, daß er diese Bakterie in fast allen von ihm untersuchten Böden gefunden hat, nur mit Ausnahme des sauren Heidesandes. Neuerdings hat Hugo Fischer-Bonn mitgeteilt[4]), daß er, bei einem speziellen Düngungsversuch in Bonn, Azotobacter vergebens in denjenigen Parzellen, welchen kein kohlensaurer Kalk zugeführt wurde, gesucht

1) Bei Einsaat in Bierwürze tritt eine Obergärung ein, aber keine Kahmhautbildung. Ob die Erscheinung auf der Ernährungsweise beruht, muß dahingestellt bleiben.

2) Centralblatt für Bakteriol., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 561.

3) Ebenda. Bd. IX. p. 3.

4) Ebenda. Bd. XIV. p. 33 und Bd. XV. p. 235. Hugo Fischers Verfahren war wie folgt: Der Boden wurde mit einer Schicht Mannitlösung übergossen. Nach Ablauf von 8 Tagen wurde auf Mannitagarplatten eine erste und nach weiteren 8 Tagen eine zweite Aussaat aus der auf der Oberfläche des Substrates vorgefundenen Vegetation vorgenommen. Soweit möglich, wurden gleiche Aussaatmengen verwendet, und man beobachtete dann die Anzahl von Azotobacter-Kolonieen auf dem Mannitagar.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hat, während die Bakterie in den Kalkparzellen in reichlicher Menge vorhanden ist.

Diese Beobachtungen deuten darauf hin, daß das Vorkommen des Azotobacter von der Basizität oder vielleicht von der Reaktion des Bodens etwas abhängig ist, und ist der Verfasser gegenwärtiger Abhandlung dadurch auf den Gedanken gekommen, daß vielleicht das Remysche Prinzip, Verwendung einer verhältnismäßig großen und bestimmten Menge Impferde, sich bei Untersuchungen über das Vorkommen dieses Organismus in den verschiedenen Erdarten und sein Verhalten denselben gegenüber in Anwendung bringen ließe. Falls nämlich der Zustand und vielleicht besonders die Basizität des Bodens den Grad des Wachstums und der Entwickelung des Azotobacter bedingt, so wird man durch Verwendung einer größeren Menge Impferde diesem Zustande näher kommen, als beim Gebrauch einer geringen Menge, und man möchte annehmen, daß der besondere und scharf ausgeprägte Charakter, welchen eine größere Menge Erde der Nährflüssigkeit verleiht, der Entwickelung des Azotobacter ziemlich bestimmte Grenzen setzen wird. Nach dieser Theorie von dem Zustande der Flüssigkeit ist es auch wahrscheinlich, daß eine zufällige Infektion an solchen Orten, wo die Bedingungen für das Wachstum des Azotobacter nicht vorhanden sind, keine Rolle spielen wird.

Eine Untersuchung nach diesem Prinzip bezweckt daher nicht sowohl, zu ermitteln, ob Azotobacter wirklich zugegen ist, als vielmehr festzustellen, ob der Boden seinem Wachstum günstige Bedingungen bietet.

Von diesen Betrachtungen geleitet, deren Richtigkeit eine Reihe orientierender Untersuchungen in allen wesentlichen Punkten bestätigt hatten, habe ich eine Reihe Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in dänischen Böden sowie über sein Verhalten gegenüber dem Kulturzustand des Bodens in Angriff genommen. — Da die nicht sehr vielen Untersuchungen, welche ich bisher vornehmen konnte, schon bemerkenswerte typische Unterschiede innerhalb der einzelnen Bodenarten gezeigt haben, werde ich im nachfolgenden eine kurze Mitteilung über die Ergebnisse geben, indem ich mir im übrigen vorbehalte, später, nachdem ich eingehendere Untersuchungen ausgeführt haben werde, auf diese Sache zurückzukommen.

Als Nährflüssigkeit benutzte ich folgende von Beijerinck vorgeschlagene Lösung:

20 g Mannit
0,2 „ Dikaliumphosphat ($K_2HPO_4$)
1000 ccm destilliertes Wasser.

Die Flüssigkeit wurde, nach Sterilisation im Autoklaven bei 120°, in Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm mit je 50 ccm verteilt. Dieselbe bildet eine ca. 12 mm hohe Schicht auf dem Boden des Kolbens und bietet der Einwirkung der Luft eine sehr große Oberfläche, ein Umstand, der für diesen ausgeprägt aëroben Organismus ja von wesentlicher Bedeutung ist. Zu jedem Kolben wurden 5 g Erde in natürlichem (nicht getrocknetem) Zustande gesetzt, worauf die Kolben in einem Thermostaten aufbewahrt wurden, wo die Temperatur ständig bei 25° C gehalten wurde. Bei günstigen Bedingungen für die Entwickelung des Azotobacter bildet sich hier in ein paar Tagen auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine dicke, schleimige, graue Haut (siehe Fig. 1), welche vorwiegend aus Azotobacter besteht, aber doch auch immer eine beträchtliche Menge anderer, namentlich stäbchenförmiger Bakterien, enthält. Diese gesamte

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vegetation wird im nachfolgenden als „Azotobacter-Vegetation“ bezeichnet. Nach einigen Tagen nimmt die Haut eine braune bis schwarze Farbe an, ein Verhältnis, das die Azotobacter-Vegetation besonders charakterisiert. Unter günstigen Verhältnissen ist diese eine so charakteristische, daß ihr Zugegensein schon mit dem bloßen Auge wahrnehmbar ist; wenn die Bedingungen dagegen weniger günstig sind, muß die Flüssigkeit einer mikroskopischen Untersuchungen unterworfen werden, da bisweilen eine Belegung vorkommen kann, welche der Azotobacter-Vegetation etwas ähnlich sieht, aber unter dem Mikroskope sich als aus ganz anderen Organismen bestehend erweist.

Die untersuchten Erdproben entstammen zum größten Teil einem Düngungsversuch und einem Kalkversuch an der Versuchsstation in Askov in Jütland. Außerdem habe ich noch eine Reihe anderer Erdproben aus verschiedenen Gegenden Dänemarks untersucht, zumeist jedoch aus Orten, wo der Kulturzustand des Bodens mir genau bekannt war. Im nachfolgenden werde ich nun eine kurze Beschreibung dieses ganzen Materials geben.

### A. Erdproben aus einem Versuch mit Stalldünger und Kunstdünger an der Versuchsstation Askov.

Dieser Versuch, welcher im Jahre 1893 begonnen wurde, bezweckt, den Wert des an der Versuchsstation erzeugten Stalldüngers zu bestimmen. Der Versuch wurde sowohl auf Lehm- als auch auf Sandboden angestellt. Der Ernteertrag aus den Parzellen, welche Stalldünger bekommen, wird verglichen mit den Erträgen der nicht gedüngten Parzellen und derjenigen, welche allseitige Kunstdüngung mit dem gleichen Gehalt an Stickstoff, Phosphorsäure und Kali, wie ihn der verwendete Stalldünger besitzt, erhalten. Gleichzeitig wurde untersucht, inwieweit der Ertrag durch Anwendung einseitigen Kunstdüngers (Chilisalpeter, Superphosphat und Kainit) in Verbindung mit Stalldünger vermehrt werden kann. Dem Versuchsstück wurden ferner drei einzelne Parzellen einverleibt, welche mit Stickstoff (Chilisalpeter) bezw. Phosphorsäure (Superphosphat) bezw. Kali (Kainit) gedüngt wurden und zwar in Mengen, welche denjenigen entsprechen, in welchen diese Nährstoffe in dem verwendeten Stalldünger vorhanden sind. Der Versuch wurde auf dem Lehmboden in folgender Fruchtfolge angelegt:

1) Roggen, 2) Wurzelgewächse, 3) Hafer, 4) Klee und Gras, 5) $^1/_2$ Klee und $^1/_2$ gemengte Saat aus Wicken und Hafer. Der Stalldünger wurde mit 40000 Pfd. auf den Roggen und 60000 Pfd. auf die Wurzelgewächse verteilt, was ca. 20000 Pfd. pro Hektar und Jahr entspricht. Die entsprechende Menge Kunstdünger: 560 Pfd. Chilisalpeter, 300 Pfd. 20-proz. Superphosphat und 600 Pfd. Kainit, wurde jährlich jeder Saat zuerteilt. — Auf dem Sandboden wurde der Versuch in folgender Fruchtfolge angelegt: 1) Hülsenfrucht oder Klee und Gras, 2) Roggen, 3) Wurzelgewächse, 4) Hafer. Der Stalldünger wurde hier mit 20000 Pfd. auf den Roggen, 40000 Pfd. auf die Wurzelgewächse und 20000 Pfd. auf den Hafer verteilt, während der Kunstdünger in den nämlichen Mengen und auf die nämliche Weise verwendet wurde wie auf dem Lehmboden. Wo auf beiden Böden der Kunstdünger als Zuschuß zum Stalldünger gegeben wird, wird die Hälfte der angegebenen Mengen genommen. Es wurden ferner ein paar Erdproben noch einem anderen Versuche entnommen, bei welchem eine größere Menge Stalldünger zur Verwendung gelangte (30000 Pfd. jährlich pro Hektar). Dieser ganze Versuch wird seit 12 Jahren

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

betrieben, und werden also während dieses ganzen Zeitraumes die einzelnen Parzellen immerfort auf dieselbe Weise behandelt. Im Frühjahre 1905 wurde die Hälfte jeder Parzelle mit kohlensaurem Kalk in einer 10 Zentner pro Hektar entsprechenden Menge gedüngt. — Die Erträge der einzelnen Parzellen sind, wie zu erwarten stand, sehr verschieden ausgefallen, sowie auch im Charakter des Bodens große Unterschiede zu Tage treten.

a) Der Versuch auf dem Lehmboden.

No. 1. 20000 Pfd. Stalldünger.
No. 2. Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter.
No. 3. Superphosphat.
No. 4. Kainit.
No. 5. Chilisalpeter.
No. 6. Nicht gedüngt.
No. 7. 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat.
No. 8. 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat + Kalk.
No. 9. 30000 Pfd. Stalldünger.
No. 10. 30000 Pfd. Stalldünger + Kalk.

b) Der Versuch auf dem Sandboden.

No. 11. 20000 Pfd. Stalldünger.
No. 12. Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter.
No. 13. Superphosphat.
No. 14. Kainit.
No. 15. Chilisalpeter.
No. 16. Nicht gedüngt.
No. 17. 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat.
No. 18. 30000 Pf. Stalldünger.

B. Erdproben aus einem Versuch mit Kalk als Vorbeugungsmittel gegen Plasmodiophora Brassicae.

Der Versuch wurde im Jahre 1902 auf dem Lehmboden Askov angelegt und hat bis jetzt 3 Jahre gedauert. Es wurden Proben entnommen aus einer Parzelle, welche keinen Zusatz von Kalk bekommen hat, und aus einer, der in jedem der 3 Jahre Kalk in einer 120 Zentner pro ha entsprechenden Menge zugeführt wurde.

No. 19. Mit Kalk.
No. 20. Ohne Kalk.

C. Erdproben aus Frammerslev (Nordjütland).

Diese Proben wurden innerhalb eines Gebietes von ca. $^1/_2$ Quadratmeile entnommen und entstammen Erden sehr verschiedener Beschaffenheit.

No. 21. Fruchtbarer Lehmboden (Brache) bedeutender Düngungskraft. Vor 15—20 Jahren wurde der Boden stark gemergelt.

No. 22. Sehr fruchtbarer Lehmboden. Die Probe wurde einem kleinen Areal (permanentes Grasfeld) entnommen, welches an einen Hofraum stößt. Das im Hofe sich ansammelnde Regenwasser, welches oft eine bedeutende Menge ausgewaschenes Mistwasser enthält, wird seit mehr als 40 Jahren über das Grasfeld geleitet. Die Vegetation, welche fast ausschließlich aus Gräsern besteht, ist daher eine sehr üppige.

No. 23. Urbar gemachtes Heideland. Lehmiger Sandboden. Die Urbarmachung fand vor ca. 40 Jahren statt und es wurde dann Mergel in bedeutender Menge verwendet. Der Boden ist als ein sehr magerer

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu bezeichnen und hat nie Stalldünger bekommen; an künstlichen Düngern wurden bei der Rotation (alle 8 Jahre) einmal geringe Mengen von Superphosphat verwendet.

No. 24. Urbar gemachtes Heideland. Leichter und noch ärmer als No. 23. Behandlung die gleiche.

No. 25. Urbar gemachtes Heideland. Kalter, feuchter und sehr magerer Sandboden. Vor ca. 40 Jahren urbar gemacht und gemergelt.

No. 26. Mergel aus der obersten Schicht (bis 2 Zoll) eines ein paar Jahre unberührt liegen gelassenen Mergelhaufens.

No. 27. Heidetorf aus einem Stück Heideland, welches an den Boden, welchem Probe No. 24 entnommen wurde, stößt.

### D. Proben von Walderde.

No. 28. Sehr saures und unvermodertes Buchenmoor aus Bregentved (Seeland).

No. 29. Buchenmoor aus Bregentved (etwas vermodert).

No. 30. Guter Waldboden aus Rungsted (Nordseeland), leichter Lehmboden.

### E. Verschiedene Erden.

No. 31. Lehmboden von der Versuchsstation in Lyngby bei Kopenhagen.

No. 32. Sehr fruchtbarer Lehmboden aus dem Garten der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen.

No. 33. Sehr fruchtbarer Lehmboden aus dem Unterrichtsfeld der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen.

No. 34. Lehmboden von der Versuchsstation Aarslev (Fünen).

No. 35. Fruchtbarer Lehmboden aus Wium Mölle in Nordjütland. Seit mehr als 50 Jahren wird hier das Mästen von Ochsen in großem Umfange betrieben, daher der Boden sehr düngungskräftig und überaus fruchtbar ist. Die Probe wurde einem Brachfelde entnommen.

No. 36. Saurer Moorboden aus Nörreskovgaard bei Hals, Wendsyssel.

No. 37. Gebrannter Moorboden aus ebendemselben Ort wie No. 36. Die Erdprobe wurde einem im Jahre 1904 abgesengten Bodenstücke entnommen, welches 1905 eine sehr ausgiebige Roggensaat trug.

No. 38. Wascherde von der Saftstation Horslunde bei Nakskov, Lehmboden. Die Probe wurde einem größeren Erdhaufen entnommen, welcher aus der von den Zuckerrüben abgewaschenen Erde bestand.

No. 39. Lehmboden aus einem Roggenacker in Eielstrup bei Helsinge (Nordseeland).

No. 40. Leichter Sandboden aus Westjütland.

No. 41. Guter, sehr kalkhaltiger Lehmboden von der Insel Mölen.

Die Proben wurden während der Zeit vom August 1905 bis Mitte April 1906 entnommen.

Die Proben aus Askov wurden in der Weise entnommen, daß man an vielen verschiedenen Stellen in den Parzellen bis zu einer Tiefe von 9 cm kleine Partieen entnahm und sorgfältig zusammenmischte. Kleine Portionen hiervon (ca. 500 g) wurden dann in Pulvergläser gebracht und so dem Laboratorium übersandt. — An den übrigen Orten wurden die Proben innerhalb eines kleinen Gebietes (ca. $^1/_2$ Morgen) gesammelt und in derselben Tiefe wie die Askov-Proben entnommen.

Die Basizität und Reaktion der einzelnen Erdproben wurden durch Uebergießen mit verdünnter Salzsäure bezw. durch Behandlung mit verdünnter Lackmustinktur qualitativ bestimmt.

Die Ergebnisse der Untersuchung über das Verhalten sämtlicher



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Böden gegenüber der vorerwähnten Flüssigkeit, sowie über ihre Basizität und Reaktion, sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle I. Versuch A.

| No. | Impferde<br>Ursprung und Art | Brausen mit Säure (Basizität) | Reaktion | Azotobakter-vegetation nach 5 Tagen | 10 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|
| | A. a) Düngungsversuch auf Lehmboden Askov | | | | |
| 1 | 20000 Pfd. Stalldünger | kein | neutral | 0 | 0 |
| 2 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | „ | „ | 0 | 0 |
| 3 | Superphosphat | „ | „ | 0 | 0 |
| 4 | Kainit | „ | „ | 0 | 0 |
| 5 | Chilisalpeter | „ | „ schwach alkal. | (+) | (+) |
| 6 | Ungedüngt | „ | neutral | 0 | 0 |
| 7 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | „ | „ | 0 | 0 |
| 8 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat + Kalk | zieml. stark | alkalisch | (++++) | (++++) |
| 9 | 30000 Pfd. Stalldünger | kein | neutral | 0 | 0 |
| 10 | 30000 Pfd. Stalldünger + Kalk | zieml. stark | alkalisch | (++++) | (++++) |
| | A. b) Düngungsversuch auf Sandboden Askov | | | | |
| 11 | 20000 Pfd. Stalldünger | kein | neutral | 0 | 0 |
| 12 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | „ | „ | 0 | 0 |
| 13 | Superphosphat | „ | „ | 0 | 0 |
| 16 | Ungedüngt | „ | „ | 0 | 0 |
| 17 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | „ | „ | 0 | 0 |
| | B. Versuch mit Kalk | | | | |
| 19 | Mit Kalk | stark | alkalisch | (+++) | (++++) |
| 20 | Ohne Kalk | kein | neutral bis schwach sauer | 0 | 0 |
| | C. Frammerslev | | | | |
| 21 | Lehmboden (Brache) | schwach | neutral bis schwach alkal. | (+++) | (++++) |
| 22 | Lehmboden (überrieselt mit Mistwasser) | „ | alkalisch | (++) | (+++) |
| 23 | Urbar gemachtes Heideland | zieml. stark | „ | 0 | 0 |
| 24 | Urbar gemachtes Heideland | kein | neutral bis schwach alkal. | 0 | 0 |
| 25 | Urbar gemachtes Heideland | schwach | neutral bis schwach alkal. | (+) | (++) |
| 26 | Mergel | sehr stark | stark alkalisch | 0 | 0 |
| 27 | Heidetorf | kein | sauer | 0 | 0 |
| | D. Waldboden. | | | | |
| 28 | Buchenmoor aus Bregentved | „ | „ | 0 | 0 |
| 29 | Buchenmoor aus Bregentved | „ | „ | 0 | 0 |
| 30 | Guter Waldboden aus Rungsted | „ | schwach sauer | 0 | 0 |
| | E. Verschiedene Böden. | | | | |
| 31 | Lehmboden von Versuchsstation Lyngby | „ | neutral | 0 | 0 |
| 32 | Lehmboden aus dem Garten der Landwirtschaftl. Hochschule | sehr stark | alkalisch | (++++) | (++++) |

1) Der Grad der Entwickelung der Azotobacter-Vegetation ist durch folgende Zeichen ausgedrückt: 0 keine, (+) schwache, (++) ziemlich starke, (+++) üppige, (++++) sehr üppige Azotobacter-Vegetation.

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

| No. | Impferde Ursprung und Art | Brausen mit Säure (Basizität) | Reaktion | Azotobacter-Vegetation nach 5 Tagen | 10 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|
| 33 | Lehmboden aus dem Unterrichtsfelde der Landw. Hochschule | zieml. stark | schwach alkal. | (++++) | (++++) |
| 34 | Lehmboden von Versuchsstation Aarslev | kein | Neutral schwach sauer | 0 | 0 |
| 35 | Lehmboden aus Wium Mölle | schwach | schwach alkal. | (++++) | (++++) |
| 36 | Moorboden aus Nörreskovgaard | kein | sauer | 0 | 0 |
| 37 | Gebrannter Moorbod. aus Nörreskovgaard | schwach | alkalisch | (+) | (++) |
| 38 | Lehmboden (Wascherde von Horslunde Saftstation) | stark | stark alkalisch | (++++) | (++++) |
| 39 | Lehmboden aus Eielstrup | kein | neutral | 0 | 0 |
| 40 | Leichter Sandboden aus Westjütland | „ | neutral bis schwach sauer | 0 | 0 |
| 41 | Guter Lehmboden aus Möen | sehr stark | stark alkalisch | (++++) | (++++ |

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß Azotobacter nicht so allgemein verbreitet ist, wie man nach den bisherigen Angaben erwarten könnte, und weiter scheint der Schluß gerechtfertigt, daß die Entwickelung der Azotobacter-Vegetation mit der Basizität (und Reaktion) des Bodens in ziemlich engem Zusammenhange steht. Es zeigt sich nämlich, daß nicht allein in denjenigen Kolben, welche saures Waldmoor oder Haidetorf enthalten, keine Azotobacter-Vegetation sich entwickelt, sondern daß dieselbe überhaupt in den Kolben fehlt, welche mit Erde, die beim Uebergießen mit Säure keine Kohlensäureentwickelung gegeben hat, beschickt sind. Es sei hier besonders auf die Erdproben der Kalkversuche in Askov verwiesen. Während Erde aus den Kalkparzellen (No. 8, 10 und 19) immer Entwickelung einer sehr kräftigen Azotobacter-Vegetation gibt, tritt eine solche nie auf, wenn die Flüssigkeit mit nichtgekalkter Erde beschickt ist (siehe Fig. 1 und 2). Ferner ist es beachtenswert, daß durch die Absengung des Moorbodens aus Wendsyssel Bedingungen für eine, wenngleich nicht sehr kräftige Azotobacter-Vegetation geschaffen wurden. Erde No. 23 (urbargemachtes Heideland) und No. 26 (Mergel) bilden Ausnahmen von der Regel, daß eine basische Impferde eine Azotobacter-Vegetation entwickelt. Ich werde später (p. 117) dieses abweichende Verhalten näher erörtern.

Um nun zu entscheiden, ob wirklich gerade der Mangel an basischen Stoffen und speziell kohlensaurem Kalk bewirkt hat, daß so viele von den untersuchten Böden keine Azotobacter-Vegetation haben hervorbringen können, habe ich versucht, einige dieser Erden in eine Lösung, welche außer Mannit und Kaliphosphat auch kohlensauren Kalk (2 g pro Liter) enthält, überzuimpfen, und zum Vergleich eine Reihe Kolben mit einer Nährflüssigkeit von derselben Zusammensetzung (ohne Kalk) wie bei Versuch a stehen lassen. Sämtliche Kolben wurden mit einer bedeutenden Menge einer Azotobacter-Rohkultur beschickt, einesteils damit ich sicher sein könnte, daß ein eventuell negatives Resultat nicht durch eine zufällige Abwesenheit von Azotobacter verursacht wäre, und anderenteils um die überaus wichtige prinzipielle Frage zu beleuchten, ob die Entwickelung der Azotobacter-Vegetation besonders durch den Zustand des Bodens (der Erde) selbst oder aber vorwiegend durch das zufällige Vorhandensein einer größeren oder geringeren Anzahl Azotobacter-Organismen bedingt ist.

Die Resultate dieser Untersuchung sind in Tabelle II verzeichnet.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mannit + $K_2HPO_4$ | | | | | | |
| | | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| | A. a) Düngungsversuch auf Lehmboden Askov | | | | | | | |
| 3 | a) Superphosphat | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | b) Kainit | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | c) Ungedüngt | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | Sandboden aus Askov | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | Buchenmoor aus Bregentved | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | Waldboden aus Rungsted | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | Lehmboden aus Lyngby | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 34 | „ „ Aarslev | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

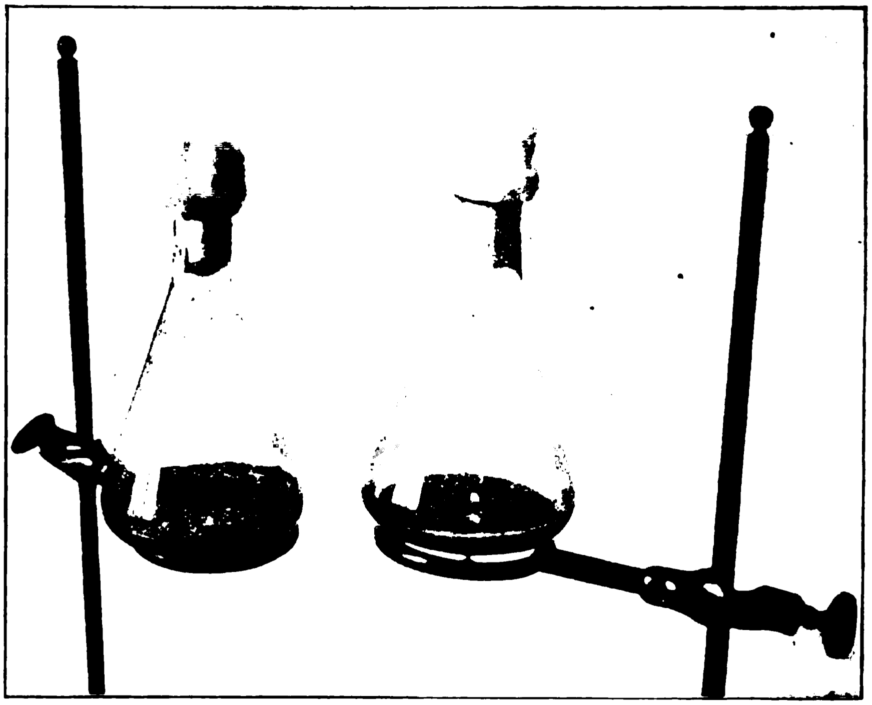


Fig. 1. Fig. 2.

Fig. 1 und 2. Nährflüssigkeit: Mannit + $K_2HPO_4$. Kolben 1 geimpft mit Boden No. 19 (gekalkt). Kolben 2 geimpft mit Boden No. 20 (nicht gekalkt). In Kolben 1 ist die Oberfläche der Flüssigkeit mit einer kräftigen Azotobacter-Vegetation bedeckt.

Es erhellt, daß durch Zufuhr kohlensauren Kalks in allen Fällen — selbst bei dem sauren Buchenmoor — Bedingungen für eine üppige Azotobacter-Vegetation geschaffen wurden, und daß die Impfung mit Azotobacter-Rohkultur ganz wirkungslos gewesen ist, wenn die Flüssigkeit keinen Kalk enthielt.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch b.

| Vegetation | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mannit + $K_2HPO_4$ + $CaCO_3$ | | | | | | |
| 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| 0 | (++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (+) | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |
| 0 | (++) | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) |

Dieses Ergebnis stimmt mit dem Resultat einer Untersuchung gut überein, welche Gerlach und Vogel zur Beleuchtung des Verhaltens des Azotobacter gegenüber verschiedenen mineralischen Nährstoffen vorgenommen haben[1], und aus welcher hervorging, daß in einer Flüssigkeit, welche keinen Kalk ($CaCO_3$) enthält, keine Entwickelung von Azotobacter und keine Stickstoffassimilation vor sich gehen.

Es ließe sich nun denken, daß diese Impfung bei Versuch b nicht notwendig wäre, wenn man dem Azotobacter möglichst günstige Lebensbedingungen verschaffte, indem es einigermaßen wahrscheinlich wäre, daß jeder Boden immer jedenfalls einige Azotobacter-Individuen enthielte, welche den Grundstamm für die Azotobacter-Vegetation bilden könnten. Zur Beleuchtung dieser Frage habe ich den folgenden kleinen Versuch angestellt, dessen Anordnung und Ergebnisse aus Tabelle III hervorgehen.

Die Impfung mit Azotobacter hat bei diesem Versuche einen sehr kräftigen Ausschlag gegeben. In den Kolben enthaltend Erde aus Eielstrup und Westjütland hat sich in den nichtgeimpften Kolben gar keine Azotobacter-Vegetation entwickelt, und in denjenigen, welche Erde aus Lyngby enthalten, tritt eine solche erst 5 Tage nach der Impfung auf, und zwar nur in einem einzigen Kolben, was darauf deutet, daß entweder nur ganz wenige Azotobacter-Individuen zugegen gewesen sind, oder daß die Erde im Laboratorium infiziert worden ist. Es wurden bei sämtlichen hier und im nachfolgenden beschriebenen Untersuchungen keine besonderen Vorsichtsmaßregeln getroffen, um zufälligen Infektionen vorzubeugen. Abwesenheit von Azotobacter ist auch der Grund, warum in Versuch a keine Azotobacter-Vegetation hervorgebracht wurde durch Impfung mit den Erdproben No. 23 und 26, welche beim Uebergießen mit Säure Luftentwickelung geben (siehe p. 115). Impft man nämlich mit Azotobacter, so entwickelt sich in beiden Fällen eine kräftige Vegetation. Die Abwesenheit von Azotobacter ist also nicht auf Mangel an Kalk, sondern vielmehr auf das Fehlen anderer für die Entwickelung dieses Organismus notwendigen Bedingungen zurückzuführen.

1) Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten. Abt. II. Bd. X. p. 636.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Nährflüssigkeit: Mannit

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter- | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Geimpft mit Azoto- | | | |
| | | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage |
| 31 | Lehmboden aus Lyngby | | | | |
| | Kolben a | 0 | (++) | (++++) | (++++) |
| | „ b | 0 | (++) | (++++) | (++++) |
| 39 | Lehmboden aus Eielstrup | | | | |
| | Kolben a | 0 | (++++) | (++++) | (++++) |
| | „ b | 0 | (++++) | (++++) | (++++) |
| 40 | Sandboden aus Westjütland | | | | |
| | Kolben a | 0 | (++) | (+++) | (++++) |
| | „ b | 0 | (++) | (+++) | (++++) |

Es erhob sich jetzt die Frage, ob für die Entwickelung von Azotobacter gerade kohlensaurer Kalk erforderlich ist, oder ob andere Kalkverbindungen an dessen Stelle treten können. Hierüber habe ich bisher nur einige orientierende Untersuchungen machen können, welche in der Weise angestellt wurden, daß die die verschiedenen Kalksalze enthaltenden Nährflüssigkeiten mit kalkarmer Erde — meist Erde No. 5 (5 g auf 50 ccm Flüssigkeit, wie gewöhnlich) — und einer kleinen Portion von einer Azotobacter-Rohkultur geimpft und dann im Thermostaten bei einer Temperatur von 25° C stehen gelassen wurden. Aus diesen Untersuchungen geht indes hervor, daß sekundäres Calciumphosphat und Kalk in Verbindung mit organischen Säuren, wie Zitronen- und Milchsäure eine vorzügliche Kalknahrung für Azotobacter abgeben, während Gips (schwefelsaurer Kalk) und Chlorcalcium, sowie auch dreibasischer phosphorsaurer Kalk nicht als Nährstoff für diesen Organismus dienen zu können scheinen. Bei Anwendung von Calciumnitrat wird auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine dünne, zusammenhängende, grauliche Belegung hervorgebracht, welche bei flüchtiger Besichtigung der Azotobacter-Vegetation sehr ähnlich sieht. Eine nähere Untersuchung zeigt aber, daß die Belegung nicht das feuchte, schleimige Aussehen dieser Vegetation hat, sondern vielmehr verhältnismäßig trocken und fest ist, sowie sie auch nicht dieselbe Mächtigkeit erreicht. Eine mikroskopische Untersuchung zeigt, daß sie vorwiegend aus ganz kurzen Stäbchen besteht, während Azotobacter entweder gänzlich fehlt oder nur ganz vereinzelt auftritt. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist diese Vegetation überwiegend aus Salpeter assimilierenden Bakterien zusammengesetzt. Kohlensaure Magnesia scheint vollkommen als Ersatz für kohlensauren Kalk dienen zu können, während die kohlensauren Alkalien kohlensauren Kalk bezw. Magnesia durchaus nicht ersetzen können. Die Tatsache, daß phosphorsaurer Kalk, sowie milch- und zitronensaurer Kalk eine ebenso üppige Entwickelung von Azotobacter hervorrufen wie kohlensaurer Kalk, zeigt, daß dieser letztere Körper direkt als Nährstoff wirkt und nicht, wie man etwa vermuten könnte, indirekt dadurch, daß derselbe den Nährboden (die Mannitlösung und die Erde) schwach alkalisch machte; Versuche, bei welchen die Flüssigkeit mit wechselnden Mengen von Kalihydrat und Kaliumkarbonat alkalisch gemacht wurde, haben in keinem Falle ein positives Resultat gegeben.

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Versuch c.**
+ $K_2HPO_4$ + $CaCO_3$.

| Vegetation<br>bacter-Rohkultur | | | Ungeimpft | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | (++) | (++) | (++) |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (++++) | (++++) | (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Für die Entwickelung der Azotobacter-Vegetation im Versuch a hat jedoch nur der kohlensaure Kalk und vielleicht auch kohlensaure Magnesia eine bedeutende Rolle gespielt, da in den anderen dem Azotobacter zugänglichen Verbindungen der Kalk wahrscheinlich in der Impferde nicht in hinlänglicher Menge vorhanden gewesen ist, um die Azotobacter-Erzeugung in erheblichem Grade fördern zu können.

Es scheint demnach, als ob diese Resultate es möglich machen würden, eine biologische Methode zur qualitativen Bestimmung der Basizität des Bodens, speziell dessen Gehalt an kohlensaurem Kalk, auszuarbeiten. Die Methode würde ganz einfach darin bestehen, eine bestimmte Menge Erde (5 g auf 50 ccm Flüssigkeit) nebst einer kleinen Portion Azotobacter-Rohkultur in eine Mannit und Kaliphosphat enthaltende Flüssigkeit, welche dem Kontakt der Luft eine verhältnismäßig große Oberfläche bietet, überzuimpfen, die Kolben in einem Thermostaten, dessen Temperatur auf 25° gehalten wird, stehen zu lassen und die Entwickelung der Azotobacter-Vegetation zu beobachten. Ganz genaue ziffermäßige Ausdrücke für die Basizität des Bodens sind freilich durch diese Methode nicht erhältlich; es dürfte jedoch einigermaßen wahrscheinlich sein, daß sie einen guten Ausdruck für das Kalkbedürfnis des Bodens geben können wird, eine Frage, welche sich jedoch erst nach Anwendung der Methode auf lokale Kalkungsversuche entscheiden läßt.

Aber wenngleich unter den hier geschilderten Verhältnissen eine üppige Azotobacter-Vegetation sich entwickelt, so folgt doch daraus noch nicht, daß auch in den Böden selbst, welchen die Proben entstammen, gute Bedingungen für eine solche bestehen; es ließe sich nämlich denken, daß andere von den Nährstoffen fehlten, welche in der erwähnten Nährflüssigkeit den Bakterien in Form von Kaliphosphat und Mannit geboten werden. — Die sehr starken Ausschläge, welche die oben beschriebenen Versuche auf Kalk ergeben haben, enthielten eine Anregung zu einer Untersuchung darüber, ob man in ähnlicher Weise auch einen Ausdruck für den Gehalt des Bodens an anderen mineralischen Nährstoffen in einer dem Azotobacter zugänglichen Form — namentlich Phosphorsäure und Kali — erhalten können würde.

(Fortsetzung folgt.)

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

*Nachdruck verboten.*

# A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.

By **F. C. Harrison,**
Bacteriological Laboratories, The MacDonald College, Ste Anne de Bellevue, P. Q., Canada.

With 8 Plates from photographs and 1 table.

(Continuation.)

Two months from the date of inoculation the pot was emptied, the seed tuber and three new potatoes were sound, one of the latter was cut open with a sterilized knife and placed in a Petri dish containing a little sublimate solution 1 : 1000; the slices remained sound.

Plant 8. Inoculated in same manner as Plant 7, but with a beef peptone agar culture, kept for 24 hours at 20° C; the sixth transfer since isolation.

In 24 hours a small cavity had formed around the puncture, with blackening of the tissues at the margin of the hole. In 2 days the cavity was larger, but the blackening of the stems was more marked. Leaves wilted and hanging down. In 4 days the plant was completely destroyed, both inoculated stems had rotted through and fallen over. The petioles near the points of inoculation were greenish brown in color, soft and flaccid. The stems of this plant were cut in thick sections, and blackening of some of the bundles was evident at a distance of 9 cm below point of inoculation, and 1 cm above in one shoot and 3 cm. above in the other. Cultures made from the most distant sections from the puncture showed the same characteristics as those originally inoculated.

The shoots were cut off close to the soil and the pot watered occasionally until 50 days later, when the soil was turned out, and one new potato and one piece of seed potato were washed, cut open with sterilized knives, placed in Petri dishes, and incubated at 20°. All pieces remained sound, and no rot was present.

Plant 9. Inoculated and reacted in the same manner as Plant 7. The whole plant was destroyed in 56 hours, the stems were soft and brown, translucent in appearance, and fallen over. The leaves wilted and dry. The affected area extended from the top of the shoots to below the surface of the soil, a distance of 15 cm.

The roots were dug up 50 days after, when the seed tuber and one of the four new potatoes was found to be rotted, the infection evidently having progressed, further than was noticeable on the third day after inoculation. Cultures made from the rotted potato identical with originals.

Plant 10. The soil in which this plant was growing was watered with a suspension made with the surface growth from one half of a beef peptone agar culture of B. solanisaprus, which had been incubated for 48 hours at 25° C, the eighth transfer since isolation.

The plant was kept under observation for two months, regularly watered and attended to; it gradually ripened and dried up in the same manner as healthy potatoes. At the end of this time (60 days since soil inoculation) the soil was emptied from the pot, and the tubers examined. There were 6 new potatoes, and the remains of the seed tuber, the latter was rotted as was also one of the new potatoes touching the seed tuber. Controls in Petri dishes as before indicated were made which confirmed

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

the visual examination (5 new potatoes healthy and 1 rotted by B. solanisaprus).

Plant 11. Inoculated and reacted as Plant 10. There were 5 new potatoes, two of them and the seed tuber were partially rotted. Controlled by subcultures in various media.

Plant 12. One shoot of the plant was cut off 14 cm above ground and a 2 mm loopful of culture from an agar slope 48 hours old, the seventh transfer since isolation, was smeared on the exposed surface. On the other stem, two petioles were cut off near their juncture with the stem and the opened wounds smeared with the same amount of the same culture. In 2 days the shoot was yellowish and markedly translucent. At the top a cavity had formed filled with watery sap and softened tissue. The petiole inoculated shoot was green; at the points of inoculation there was a slight blackish discoloration but the stubs were quite dry and not softened. In 56 hours the bacteria had spread to a distance of 12 cm. from the top of the inoculated stem, as shown by cultures made from the interior of the stem, taken at intervals of 2 cm. The disease on the petiole inoculated stem made no further progress.

The plant was dug 50 days later, there were 5 new potatoes, two of these and the seed tuber were rotted.

Plant 13. Control plant 13 treated in the same fashion as Plant 12 except the stem and petiole were cut with a sterile knife. The cut surfaces callused over and the shoots and leaves remained healthy. The plant was dug on the 60th day. There were 4 new potatoes, these and the seed tuber were all healthy, no rot was present. Controlled by Petri plate cultures.

Plant 14. Control plant for experiments on plants 5, 7 and 8.

Five stem punctures were made on the shoots of this plant with a sterilized needle. The plant remained healthy and gave a crop of three new potatoes, these and the seed tuber were healthy and free from rot. Slices of the new potatoes placed in sterile Petri dishes remained free from rot.

Careful determinations of the percentage of rot in each of the 104 varieties of potatoes under test had been made by the Prof. of Field Husbandry, and a full report of all these has been published in the Report of the Ontario Agricultural College for 1905, so before commencing the third series of plant inoculations, the data concerning the rotting of all varieties of potatoes grown on the experimental plots was carefully studied, and a number of varieties wich showed the least rot and the most rot were selected.

The varieties, percentage of rotted potatoes for 1903, 1904 and 1905, the average per cent. of rot for these three years, and the average yield are given in the following table.

(See Table p. 122.)

Reference to the above will show that the four last varieties which were very badly rotted in 1904, were almost free from rot in 1905. These four were all early potatoes and their relative freedom from rot was perhaps partly due to the small rainfall of August 1905, and partly due to the fact that the seed used in 1905 was obtained from the crop of 1904 which was badly infected, and those potatoes which escaped the disease may be regarded as having acquired a certain amount of immunity.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | Percentage rotted in 1903 | 1904 | 1905 | Average | Average yield 3 years bushels per acre |
|---|---|---|---|---|---|
| Davies' Warrior | — | 0 | 0,83 | 0,28 | 420 |
| Main Crop | 15,70 | 0,84 | 1,48 | 6,01 | 245,1 |
| Skerries | 6,00 | 1,37 | 5,16 | 4,18 | 133,8 |
| Davies' Dunion | — | 2,78 | 2,20 | 1,66 | 173,0 |
| Factor | 7,80 | 2,81 | 0,74 | 3.78 | 181,3 |
| Tremedous | 6,90 | 3,64 | 22,07 | 10,87 | 190,8 |
| Sensation | 6,30 | 3,90 | 17,21 | 9,14 | 199,7 |
| Holborn Abundance | 2,20 | 4,53 | 5,57 | 4,10 | 305,4 |
| Empire State | 12,60 | 43,70 | 12,19 | 22,83 | 254,9 |
| Early Fortune | 18,30 | 64,0 | 0,44 | 27,58 | 205,6 |
| Early Dominion | 42,30 | 64,21 | 0,95 | 35,82 | 214,2 |
| Early Andes | 19,00 | 64,23 | 0 | 27,74 | 214,2 |
| Acme | 28,60 | 67,83 | 1,01 | 32,48 | 189,6 |

The following table shows the dates of planting and maturing of these varieties, and the amount of rainfall at the College in inches, for the years 1903—1905.

| | 1903 Planted | 1903 Mature | 1904 Planted | 1904 Mature | 1905 Planted | 1905 Mature | | Rainfall at Guelph. inches 1903 | 1904 | 1905 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Early Fortune | 30. V. | 4. IX. | 10. VI. | 30. VIII. | 23. V. | 30. VIII. | June | 3,05 | 2,86 | 3,24 |
| | | | | | | | Average | 2,84 | 2,84 | 2,85 |
| Early Dominion | 30. V. | 11. IX. | 10. VI. | 3. IX. | 23. V. | 4. IX. | July | 2,67 | 4,99 | 4,60 |
| | | | | | | | Average | 3,92 | 3,92 | 3,92 |
| Early Andes | 30. V. | 4. IX. | 10. VI. | 30. VII. | 23. V. | 30. VIII. | Aug. | 3,47 | 3,88 | 1,98 |
| | | | | | | | Average | 2,29 | 2,29 | 2,29 |
| Acme | 30. V. | 4. IX. | 10. VI. | 3. IX. | 23. V. | 1. IX. | Sept. | 1,48 | 2,80 | 2,85 |
| | | | | | | | Average | 2,58 | 2,58 | 2,58 |

Series 3. Plant inoculations of various varieties. All plants grown in the same manner as already described. These plants were very thrifty, having from two to six shoots each. One to three of these shoots were punctured in a number of places with a sterilised needle, and thus acted as controls. In the stem inoculations, one puncture was made into which a one millimeter platinum loop, charged from a potato agar culture, 6th, 7th or 8th transfer since isolation, was introduced. The tuber inoculations were also made with the same kind and amount of culture. All plants were observed daily and notes taken; for the sake of brevity, these notes are not given in full, as most of the plants reacted like numbers 15 and 16. Plants matured in 40—60 days after inoculation, and the contents of the pot were emptied and the seed tuber and new potatoes taken to the laboratory, where they were carefully examined and cultures made from them.

Plant 15. Variety Tremendous. One stem on this plant was inoculated from a potato agar culture, 24 hours old, with one needle prick in the stem, 3 cm. from the top. The two other stems had one petiole inoculation on one leaf of each shoot. In 2 days there was a small cavity around the stem puncture, with blakening around the wound, and browning of the stem, the leaves above the cavity were drooping. There was slight browning of the petioles at the point of inoculation. On the third day the stem was blackened and all around for a distance of 4 cm, and beyond the darkened area the stem was yellowish green for a further distance of 5 cm. The leaves above the site of inoculation were drooping

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

and hanging parallel with the stem. There was no change in the petiole inoculations. On the fith day the stem had fallen over, and on the tenth day was completely destroyed. Progress of the disease on the other stems was slower, and only one of the two entirely rotted. On turning out the contents of the pot on the 45th day after inoculation, the seed potato was found to be completely rotted, nothing but skin was left, one small new potato had formed, but on cutting it open, it was found to be diseased.

Plant 16. Variety Tremendous. This plant was inoculated in the following manner. The soil covering a part of the seed tuber was carefully removed, and a few small scratches made on the surface of the tuber, which were then smeared with a 1 mm. loopful of culture from a potato agar slope 24 hours old. The soil was then replaced, and the plant watered as often as was necessary. On the 12th day after inoculation the leaves began to turn yellowish green. On the 14th day the yellowing of the leaves was more marked, the whole stem leaning over; the plant, evidently rotting just below the surface of the soil. A few days later there was blackening of the stem to a distance of 1 cm above the surface of the soil. From now on the disease progressed more quickly, the stem fell over and the leaves dried up. On emptying the pot the seed potatoes and all the new potatoes were found to be completely rotted, nothing but skin being left.

Plant 17. Variety, Early Fortune, a vigorous plant with six shoots, and about 35 cm. high. Inoculations: 2 stem punctures, 2 petiole punctures, and two stems pricked with a sterilised needle in several places on the shoots and petioles. The culture used was a potato agar one, 24 hours old, the seventh transfer since isolation.

This plant reacted like Plant 15. The inoculated stems completely rotted in 5 days, the petiole inoculations dried out, and the two control stems remained healthy and matured. On emptying the pot, the seed tuber was found to be completely rotted, and two of the nine new potatoes were also diseased.

Plant 18. Variety Early Fortune, vigorous plant 30 cm. high with seven shoots. Inoculation: 3 small roots were exposed, cut off and the attached ends smeared with culture, and reburied in the soil. The plant showed no signs of rot for 30 days, when one shoot became much blackened at the base and the leaves turned yellow. The other shoots were only slightly affected. On the 65th day after inoculation, the pot was emptied, the seed tuber was rotted and the base of the stems beneath the ground softened. The eleven small seed potatoes were sound. Cultures from seed tuber confirmed the identity of the organism with that inoculated.

Plants 19 and 20. Variety Empire State, were inoculated in the same way as plants 15 and 16. The inoculated shoots of the former rotted, the controls remained healthy and matured. The seed tuber was rotted and the two new potatoes were slightly affected. Plant 20 began to show symptoms of the disease 10 days after inoculation and gradually succumbed. The seed tuber and one new potato were both affected with the rot. Controlled by subcultures.

Plant 21. Variety Factor. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed tuber rotted, one new potato slightly affected.

Plant 22. Variety Factor. Inoculated with 1 mm loopful of an agar culture 48 hours old which had been made from a culture in

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uschinsky's medium 168 days old (room temperature). The inoculated stem showed the characteristic symptoms of the disease, the control stem remained healthy and matured. The seed potato was rotted, but the two new potatoes healthy.

Plant 23. Variety Holborn Abundance. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed tuber and one new potato showed rot. Three new potatoes sound. Controlled and verified by subcultures.

Plant 24. Variety Holborn Abundance. Inoculated and reacted as Plant 15. The two inoculated stems rotted, and the two stems punctured with a sterilised needle remained healthy, and matured. The seed potato rotted, and the three new potatoes sound.

Plant 25. Variety Main Crop. Inoculated and reacted as Plant 24. Seed potato and two small new potatoes rotted. Verified by subcultures.

Plant 26. Variety Main Crop. Inoculated and reacted as Plant 16. Seed potato and three out of the five new potatoes rotted. Verified by subcultures.

Plant 27. Variety Skerries. Inoculated and reacted as Plant 15. One portion of the seed potato was completely softened and the remainder was discolored brown. There were no new potatoes.

Plant 28. Variety Skerries. Inoculated and reacted as Plant 16. The seed potato completely rotted nothing but skin left. There were no new potatoes.

Plant 29. Variety Davies' Dunion. Inoculated and reacted as Plant 15. The seed potato completely rotted, and 3 of the 6 new potatoes when cut open showed signs of discoloration; they were transferred to a Petri dish, and in 5 days showed considerable rotting.

Plant 30. Variety Davies' Dunion. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed potato completely softened, and three of the six new potatoes were affected. Verified by subcultures.

Plant 31. Variety Davies' Warrior. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed potato and two of the five new potatoes touching the seed potato were softened and rotted. Verified by subcultures.

Plant 32. Variety Davies' Warrior. Inoculated and reacted same as Plant 16. The seed tuber completely rotted, five very small new potatoes, one of which was affected with rot.

Plant 33. Variety Sensation. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed potato showed slight softening but marked blackening. The two small new potatoes were slightly blackened.

Plant 34. Variety Sensation. Inoculated and reacted as Plant 16. The seed potato showed complete rot. The one new potato was healthy. Verified by control cultures.

Plant 35. Variety Early Dominion. Inoculated and reacted as Plant 15. The seed potato showed slight softening and discoloration. One large and one small new potato were slightly softened in the centre.

Plant 36. Variety Early Dominion. Inoculated as Plant 16, but showed no signs of the disease, the plant matured, on emptying the pot the seed potato was found to be completely rotted, and one of the six new potatoes was blackened and rotted in the centre.

Plant 37. Variety Early Andes. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed potato and three new potatoes softened and rotted. Verified by control cultures.

Plant 38. Variety Early Andes. Inoculated and reacted as Plant 16. The seed potato was completely rotted, the four new potatoes healthy.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Plant 39. Variety Acme. Inoculated and reacted as Plant 15. Seed potato complete soft rot, one new potato showed slight rot. Verified by control cultures.

Plant 40. Variety Acme. Inoculated and reacted as Plant 16. Seed potato softened and rotted; of the eleven new potatoes, two were affected.

In addition to the above series of plants, four plants were punctured with a sterilized needle in numerous places on the stems and petioles. They remained healthy, matured, and the seed tubers and new potatoes were perfectly sound and healthy. Cultures made from the tubers remained sterile.

## Other experiments on the rotting of the different varieties of potatoes.

Early Fortune, Empire State, Holborn Abundance, Tremendous, Skerries, Acme, Factor, Sensation, Early Andes, Early Dominion, Main Crop.

One of each of the above varieties of potato was washed and rinsed in sublimate 1:1000, then cut into 1 cm. slices with a sterilised knife and placed in sterile Petri dishes on pieces of filter paper moistened with sublimate 1:5000. Each slice was inoculated with one oese of the growth from an agar slant tube, shaken up in 10 ccm. of bouillon. One piece of potato in each plate was left uninoculated.

In all there was complete softening with blackening near the skin in 4 days, thus the relative immunity of certain of these varieties under field conditions was not evident under the experimental conditions stated above.

A series of different varieties were inoculated with a 24 hour old potato broth culture of B. solanisaprus by means of a hypodermic syringe. The needle was thrust through the skin of the potato and the piston of the syringe forced down a little and then withdrawn, a small drop of the culture remaining in the potato. The potatoes were then wrapped in wax paper and kept at a temperature of 10—15° C.

Main Crop. No gummy exudate. A cavity about 8 mm. in diameter and 10 mm. long, lined with brownish-black, corky tissue. No translucent area.

Skerries. No gummy exudate present. Very slight discoloration along the line of inoculation, showing a small cavity with the adjacent cells dried out on each side. The color of the adjacent tissue was light brown, differing remarkably in this respect from the blackened tissue of Early Andes.

Factor. A small black gummy spot at the point of inoculation. Around it the skin of the potato was tough and somewhat papery and depressed. On cutting open the potato, it was found that the spot had extended to a width of 7 millimetres, a length of 25 millimetres. The dry, brown, corky-like tissue present in Early Andes was less in amount, but the amount of soft, translucent tissue was considerably larger.

Tremendous. Small spot of black gummy exudate. Interior showed a mass of soft, blackened tissue, 5 mm. wide by 12 mm. long.

Sensation. A large drop of the black gummy exudate and a depressed papery-like area around this some 15 mm. in diameter. Interior similar to Early Andes.

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Holborn Abundance. No gummy exudate, but a small depressed area at the point of inoculation. Similar in appearence to Factor. Not a very large area of discoloration and no cavity.

Empire State. Small gummy exudate, depressed and papery area of the skin, large amount of diseased tissue more than any of the others, containing a large cavity surrounded by translucent material and containing a considerable amount of white bacterial growth.

Early Fortune. A large drop of black gummy exudate similar in size, shape, appearance and extent to Early Andes.

Early Dominion. Small drop of black gummy exudate. Considerable amount of softened tissue in the interior, similar to Factor.

Early Andes. At point of inoculation black gummy exudate 5 mm. in diameter. On opening this potato 3 zones were noticeable. A cavity bordered by brownish tissue which was somewhat dry and this part was edged by translucent tissue which was quite soft.

Acme. A small drop of black gummy exudate, appearance similar to Factor.

The varieties are arranged in order of their immunity from rot under the field conditions of 1904; and this method of experimentation shows a decided difference in their susceptibility. Thus Main Crop showed considerably less indications of the disease than Early Andes.

## Inoculations of other plants.

Six Tomato, plants, pot grown and thrifty, were inoculated as follows:

T. 1. One needle puncture in the stem into which one oese of a culture of B. solanisaprus was introduced. In two days there was a blackened area 8 × 5 mm, slightly depressed and whitish in the centre. In 4 days there was a great increase of the blackened area. The petiole of the leaf nearest the site of inoculation was blackened for a distance of 4 mm, and was so softened that it hung down. There were black spots on the stem 4 cm. below the point of inoculation. In 6 days the stem had fallen over, softening very marked 2 cm. above and below the puncture. The blackened area extended downward for 12 cm. and upward for 4 cm. The stem was cut up into sections. The bundles from the stem into the petioles of three leaves were blackened, sections of stem cut at intervals showed complete rotting, blackening and collapse of the tissues near the point of inoculation, and further down the epidermis and cells beneath were blackened, as well as a few of the bundles, the blackening of the latter was most marked at the nodes, the internodal spaces showing less disease. Above the point of inoculation the blackening was most marked in the vascular bundles, even when the exterior of the stem showed no trace of the disease, the organism had spread as far as the apex of the plant. Cultures verified the identity of the inoculated bacillus.

Plants T. 2, T. 3, T. 4, T. 7, T. 8 and T. 9 were inoculated and reacted as Plant T. 1.

T. 5 was inoculated in a petiole, the disease spread to the stem, and the whole plant became affected.

T. 6 and T. 10. Control plants punctured in several places with a sterilised needle. They remained thrifty and healthy.

Egg plant. S. melongena. Five pot grown young egg plants were inoculated and several times re-inoculated in the stem but with-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

out result. The wound quickly filled with corky tissue, and no rotting ensued.

Physalis. Three plants of Physalis which had been growing outside were dug up and potted. After remaining in the pots for 10 days, two of them were inoculated in the stems. No results followed. They were again re-inoculated in the more succulent tissue at the apex, when slight rotting ensued in these soft parts, which did not spread further than 3 cm. from the top of the plant.

Datura Stramonium. One plant was repeatedly inoculated in various places on the stems, but without result. The wounds filled up with corky tissue and the plant remained sound.

Capsicum annum. Four young, pot-grown plants were inoculated in the stems, each with one needle puncture, into which a 1 mm. platinum loop, charged from an agar culture of B. solanisaprus was introduced. Two days after all plants were wilted, the rot was spreading up and down with brownish discoloration near the site of inoculation and a dull, dark green, with softening of the tissues at a distance of 2 to 4 cm from the point of puncture. In four days the plants were completely destroyed. Cultures from the affected tissues showed the presence of B. solanisaprus. One control plant punctured with a sterilised needle remained healthy and sound.

Cucumber. A greenhouse grown cucumber was inoculated in the usual manner, in the stem, and petiole of a leaf. In two days there was a small area of discoloration around the point of inoculation. The petiole of the leaf was rotted at the point of puncture, and had fallen down, the leaf itself was flaccid and yellow. Examination of the petiole showed the presence of bacteria 12 cm above and 6 cm below the point of inoculation. The most affected tissues were soft and pulpy but without discoloration. Pieces of the tissue imbedded and sectioned showed the collapse of the cells, and the bacteria in the intercellular spaces and middle lamella.

This experiment was repeated on another vine and with similar results.

Controls made on other portions of these vines, by puncturing with a sterilised needle, remained sound and healthy.

Petunia sp. Five greenhouse grown Petunias were repeatedly inoculated an the stems and petioles with B. solanisaprus, but without result.

The following plants: Schizanthus pinnatus, Collinsia verna, Salpiglossis sinuata and Ipomoea purpurea, belonging to the Solanaceae or closely related orders were inoculated in the stems, but no rot or any other symptom followed. As a rule, the wounds filled with brown corky tissue, or else dried out. A second attempt, with larger amounts of culture also failed.

Morphology. The organism is a bacillus, with slightly rounded ends and variable in size according to the media and temperature at which it has grown. From freshly infected potato stems and tubers it varied in size from 1,5 to 4 $\mu$ long and about 0,6 to 0,9 $\mu$ wide.

From beef peptone agar cultures 24 hours at 20° C, the bacteria were short and stout, rather variable in length, ends rather square but rounded, vacuolated, with average dimensions, 1,2 $\times$ 0,6 $\mu$.

From agar kept 24 hours at 37° C, the bacteria varied in size from 1 to 15 $\mu$ long, with many swollen and bent rods, some 0,6 to 1,4 $\mu$

Generated on 2019-09-21 14:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

wide. On potato agar similar forms occurred. The tubes were transferred at the end of 24 hours to the incubator at 25° C, and examined at the end of 24 hours. There was abundant growth and the bacteria were short and stout, on again transferring to 37° C, and leaving the tubes for another 24 hours, involution forms were again present similar to those already observed (Fig. 15 and 16).

From beef peptone gelatine +5, 24 hours at 20° C, the bacilli were short and stout, ends slightly rounded, some vacuolated, dimensions 1 to 2,5 $\times$ 0,6 to 0,8 $\mu$.

From beef peptone bouillon +5, 24 hours at 20° C, the ends of the bacilli were slightly more rounded, otherwise the same as from agar cultures at 20° C.

From bouillon cultures kept at 37° for 24 hours involution forms were common, swollen, bent rods, some of them extremely long. When these cultures were transferred to the incubator kept at 25° C, the bacteria grew normally.

Capsules. None observed.

Flagella. The bacillus is actively motile, especially when taken from raw potato. The bacilli from agar streak cultures and from beef peptone bouillon are also motile but less so than those from potato.

The flagella vary in number from five to fifteen or more, peritrichously disposed, are usually persistent as some motile forms may be seen in old cultures.

They stained readily, but really good preparations were difficult to secure. Van Ermengem's, a modified form of Loeffler's, and the night blue methods gave fair results (Fig. 17).

Spores. No spores have been observed, no appearance of spores has been noted in old cultures, and the thermal death point was relatively low.

Zoogloea. A few flocculent masses occurred in bouillon cultures, and a ring formed on the side of the tube with zoogloea-like masses on the surface which sank on very slight disturbance. Chains and filaments might be found in most cultures.

Involution forms. Mention has already been made of the peculiar swollen, bent and very long forms in cultures of this organism kept at 37° C.

(Continuation follows.)

## Inhalt.

**Christensen, Harald R.**, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden, p. 109.
**Harrison, F. C.**, A bacterial rot of the potato caused by Bacillus solanisaprus. (Continuation), p. 120.
**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen. (Forts.), p. 91.
**Hutchinson, H. B.**, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze, p. 65.
**Saito, K.**, Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung. (Forts.), p. 101.
**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sporenpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. III. Mitteilung. (Forts.), p. 75.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 5/7.

Nachdruck verboten.

# Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

Mit 7 Textfiguren und 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

### a) Das Wachstum einer Kolonie aus einer einfachen Zelle.

Die Entwickelung einer jungen Kolonie aus der Zelle ist bisher nur an fadenbildenden Bakterien, an Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac. lactis albus und Streptococcus, studiert worden.

Im großen und ganzen traten dabei die gleichen Erscheinungen auf. Die Figurenserie 3 gibt Bilder der Entwickelung von Bac. lactis albus auf der Agaroberfläche bei 35°, die ich mit dem Zeichenapparate hergestellt habe. Die betreffende Kultur erhielt ich in der Weise, daß ich die Agarschicht einer Petri-Schale eines Abends mit Bouillon, welche ganz wenige Impffäden enthielt, betupfte. Bei Zimmerwärme war bis zum nächsten Morgen nichts gewachsen. Bei 33—36° stellte sich jedoch bald ein sehr lebhaftes Wachstum ein, wie die beistehenden Figuren zeigen.

Der Impffaden wuchs zuerst nur in der Mitte; die beiden Enden liegen fest und können, wie es scheint, auf der Oberfläche nicht gleiten. Da sich der Faden trotzdem verlängerte, so muß er sich biegen, wie sich ein Draht beim Erhitzen biegt, wenn er an beiden Enden festgeklemmt ist. Nach 1 Stunde ist die Durchbiegung schon ziemlich fortgeschritten; und nun beginnt auch das obere Ende sich zu verlängern.

Der Faden bleibt bei den Punkten *A* und *B* infolge irgend eines nicht erkennbaren Hindernisses festliegen, so daß diese Punkte in allen Zeichnungen als feste Punkte wiederzufinden sind.

Zugleich fängt jetzt auch das Stück *C*—*A* an, sich auszudehnen, und da *A* und *C* festliegen, so erfolgt hier eine Durchbiegung des Fadens nach rechts; *C* läßt sich ebenfalls als fester Punkt in allen Zeichnungen wiedererkennen.

Dieses Spiel wiederholt sich bei jedem Faden, sobald er etwas länger ausgewachsen ist und auf irgend einen Widerstand stößt.

Der höchste Teil oder der „Kopf" der Durchbiegung wird also auf der Agaroberfläche fortgeschoben und bestreicht auf diese Weise oft ziemlich große Flächen. Trifft solch eine Durchbiegung bei ihrem Wachstum auf einen anderen Faden, so wird dieser mit fortgeschoben (vergl. 2 Std. 54 Min. bei *D*, *E*, *F*). Aber nicht nur einzelne Fäden, sondern ganze Fadenbündel können so fortgeschoben werden (z. B. 3 Std. 55 Min.).

Das Durchbiegen und Fortschieben der Bakterienfäden nach allen Seiten ist wohl eine der Hauptursachen für die stets mehr oder weniger rundliche Form der Kolonieen.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein zweiter Grund hierfür ist der, daß Fäden, welche weit aus der Kolonie herauswachsen, in einer gewissen Entfernung von derselben sich plötzlich krümmen und dann entweder, an dem Ausgangsfaden entlang gleitend, zur Kolonie zurückwachsen oder, wenn die Krümmung stärker war, eine Spirale bilden, wie dies das obere Ende des ursprünglichen Fadens nach 2 Stunden zeigt.

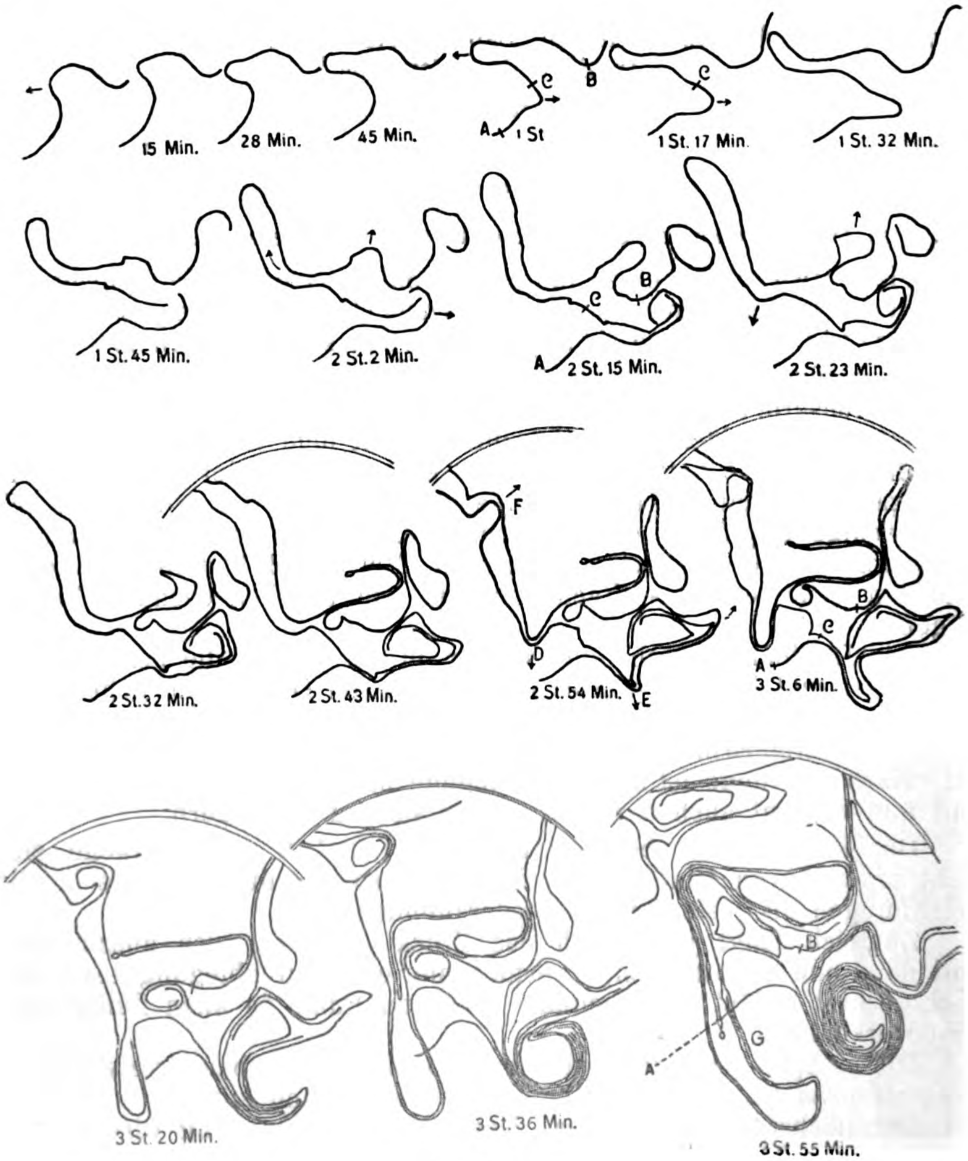



Fig. 3.

Die ganze Kolonie, wie sie z. B. nach 4 Stunden gezeichnet ist, besteht nicht mehr aus einem zusammenhängenden Faden, sondern aus mehreren Teilen. Der Grund des Brechens oder der Teilung der Fäden ist nicht immer zu erkennen. Oft bricht der Faden bei einer starken Krümmung (z. B. 1 Std. 45 Min., 2 Std. 54 Min. links), jedoch tritt es nicht immer ein (siehe die dicke Spirale nach 4 Stunden). Auch ein

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gerader Faden kann sich ohne ersichtlichen Grund teilen (3 Std. 55 Min. bei *G*). Endlich kann ein Faden auch reißen, wenn er durch die Ausbiegung eines anderen fortgeschoben wird und sein Wachstum mit der Schnelligkeit der Bewegung nicht Schritt hält. Gotschlich äußert sich über das Wachstum der fadenartigen Mikroorganismen wie folgt: „Sehr merkwürdig sind die bei einzelnen Arten, zuerst bei Proteus, von Hauser beobachteten versprengten kleinen Kolonieen, die massenhaft um eine größere geschart liegen, und zwar in einer zentrischen Anordnung, die ihren Ursprung von jener unzweifelhaft dartut; dieselben entstehen durch Ausschwärmen eines Bakterienfadens in die Umgebung, wobei vielleicht eine chemotaktische Anlockung durch die noch unberührten Nährstoffe in der Nähe der Kolonie mitwirken mag; unter günstige Nahrungsbedingungen gelangt, bilden diese Schwärmer eine neue Tochterkolonie, die scheinbar unabhängig von der ursprünglichen erscheint, oft aber noch durch dünne Fäden mit ihr verknüpft ist."

Die allmähliche Abrundung der Kolonie kommt wahrscheinlich hauptsächlich dadurch zu stande, daß Unebenheiten der Nährbodenoberfläche den sich streckenden Faden am geraden Wachstum verhindern und eine Biegung des Fadens und dadurch eine Aenderung der Wachstumsrichtung bewirken. Auch scheint nach Ward wohl eine Art Tigmotaxis vorhanden zu sein. Diese Anschauung fand freilich durch meine Versuche keine Bestätigung. Das Auftreten von Spiralen dürfte vielleicht dieselbe Ursache haben.

Ebenso wie bei Bacillen scheint das Wachstum von Streptokokken durch Unregelmäßigkeiten der Nährbodenoberfläche stark beeinflußt zu werden. Infolge der Biegung der Streptokokkenketten ändert sich die Wachstumsrichtung in der Art, daß die Kolonie kreisrund wird. Figurenserie 4 zeigt die große Aehnlichkeit in der Bildung von Kolonieen beim Wachstum der Streptokokken und dem der Bacillen.

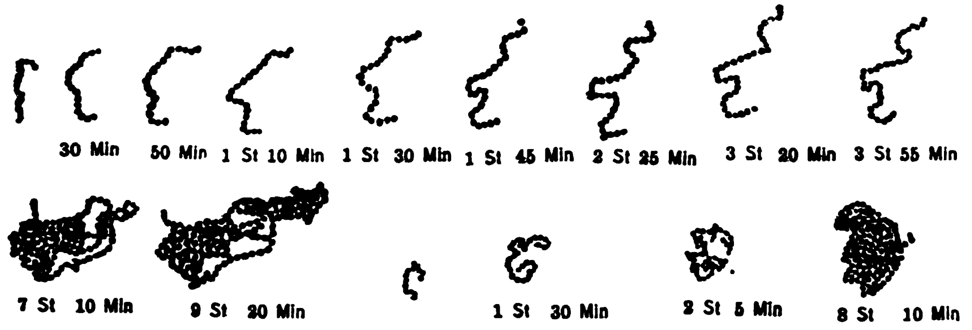



Fig. 4.

Da die Streptokokkenfäden leicht in kleine Teile zerfallen, kommt die Ausschwärmung ganzer Ketten gar nicht vor.

Bei den nichtfadenbildenden Bakterien erfolgt das Wachstum der Kolonieen in ähnlicher Weise; nur werden hier die Zellen, die sich bei der Vermehrung gegenseitig drängen und schieben, nicht lange im Zellverbande bleiben, sondern sich lostrennen, dicht gedrängt um das Keimzentrum liegen und so eine runde Kolonie bilden. Die Abrundung wird wegen des losen Zellverbandes rascher erfolgen, als bei fadenbildenden Bakterien und Ausläufer werden nicht vorkommen.



Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**b) Das weitere Wachstum der Oberflächenkolonieen.**

Die Beobachtungen des Anfangswachstums einer Kolonie lassen sich natürlich nur mit dem Mikroskop verfolgen und sind hauptsächlich darauf gerichtet, die relative Lage der einzelnen Zellen zueinander nach einer oder mehreren Richtungen des Raumes zu erkennen. Das zweite Stadium ist das Wachstum dieser mikroskopisch kleinen Kolonieen zu sogenannten Riesenkolonieen, welche sich oft durch scharf hervortretende Unterschiede auszeichnen. Fast alle Organismen haben die Eigenschaft, scharf begrenzte, entweder symmetrische, linsenförmige, ovale, kugelförmige, oder asymmetrische (unregelmäßig baum- oder blumenähnliche) Kolonieen zu bilden. Die Unterschiede in den Formen, die Konstanz einiger Formen und die Veränderlichkeit anderer, veranlaßten mich, die Einflüsse, welche diese Konstanz resp. Veränderlichkeit bedingen, näher zu untersuchen.

Da die Beobachtungen zuweilen längere Zeit in Anspruch nahmen, schien es mir vorteilhafter, mit agarhaltigen Nährmedien zu arbeiten, anstatt mit Gelatine, deren Verflüssigung möglicherweise schon nach wenigen Tagen die Beobachtungen stören konnte.

Viele Bakteriologen sind der Ansicht, daß, abgesehen von der Möglichkeit der Verflüssigung, auch manche Unterschiede in Form und Aussehen der Kolonieen auf Gelatine deutlicher zum Ausdruck kommen, als auf Agar.

Ich habe aber trotzdem aus dem oben erwähnten Grund Agarmedien benutzt.

Wenn wir von den im 1. Teil dieser Arbeit erwähnten, etwas phantastischen Ansichten Mündens über die Organisation der Bakterienkolonieen absehen und die Kolonieen als eine Ansammlung einfacher Zellen betrachten, so muß sich bald die Ueberzeugung aufdrängen, daß die Bildung der Formen der Kolonieen von einer großen Anzahl verschiedener Faktoren abhängt.

Die verschiedene Lebensenergie der einzelnen Bakterien derselben Art in verschiedenen Teilen einer Kolonie, die Erzeugung von Bakterienschleim und die chemischen, physikalischen und physiologischen Bedingungen müssen einen bedeutenden Einfluß auf die endgültige Gestalt einer Kolonie ausüben.

Im folgenden möchte ich einige dieser Bedingungen und ihren Einfluß auf die Kolonieform näher betrachten. Lassen sich auch manche dieser Einflüsse jetzt noch nicht erklären, so sollen sie doch hier nicht unerwähnt bleiben.

### 4. Die Bildung von Schleim in den Kolonieen.

Die Bildung von Schleimsubstanzen durch die Mikroorganismen wechselt von Species zu Species und auch nach den Ernährungsverhältnissen der Organismen.

Bekanntlich hängt die Schleimproduktion bei einigen Organismen von der Gegenwart löslicher Kohlehyrate im Nährmedium ab, und wächst mit der Menge der vorhandenen löslichen Kohlehydrate. Der Einfluß des Schleims auf die Kolonieform ist am deutlichsten in Kolonieen von Leuconostoc und den schleimbildenden Kokken zu sehen. Die Kolonieen dieser Organismen zeigen eine fast kugelige Gestalt.

Vielleicht wird auch die Form der Hefekolonieen durch die Schleimbildung beeinflußt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei ihnen tritt der zuerst von Emil Chr. Hansen (8) beobachtete und als gelatinöses Netzwerk bezeichnete Schleim sehr häufig nach Will (9) an den Zellen von Hautbildungen sowie von älteren Riesenkolonieen auf. Nach ihm ist die Entwickelung eines gelatinösen Netzwerkes besonders in den zentralen Partieen von Riesenkolonieen in ausgedehntem Maße zu beobachten. Ich habe mehrmals Kolonieen gesehen, die ein solches Netzwerk in allen ihren Teilen, ob jung oder alt, sehr deutlich zeigten. Die größten Mengen von Schleim fand ich in einer Kolonie von Kahmhefe.

Höchst wahrscheinlich spielt diese Verschleimung der Zellen eine bedeutende Rolle bei der Bildung jener Kolonieformen, die sich relativ hoch über die Oberfläche des Nährmediums erheben, deren Höhe etwa 2 oder 3mal so groß ist wie ihre Breite (Höhe 3 mm, Breite $1-1\frac{1}{2}$ mm).

Da ich solche Formen nur einmal bei einer Hefe sah, war es mir nicht möglich, sie näher zu studieren.

Nach Wilde kommen auch beim Friedländerschen Pneumoniebacillus Unterschiede in der Stärke der Schleimbildung vor, durch welche die Kolonieform beeinflußt wird. Außer den gewöhnlichen runderhabenen Kolonieen findet man zuweilen solche, die flach, granuliert und zackig umrandet sind und von Spielarten herrühren, die wenig oder gar keinen Schleim absondern.

Es würde interessant sein, die Bedingungen der Schleimbildung genauer zu studieren und ihren Einfluß auf die Kolonieform nachzuweisen.

## 5. Lebensenergie der Organismen in den Kolonieen.

Höchst wahrscheinlich ist die Lebensenergie der Mikroorganismen in verschiedenen Teilen der Kolonieen sehr verschieden. Nach den Untersuchungen von Ficker (10) ist der größte Teil der Bakterien in einer Kolonie schon nach 3—4 Tagen abgestorben oder doch sehr geschwächt, infolge davon, daß sich die Lebensbedingungen ungünstig gestaltet haben, sei es durch eingetretenen Abschluß oder den ermöglichten Zutritt von Sauerstoff, sei es, daß es im Substrat an Nährstoffen mangelte, oder daß sich schädliche Stoffwechselprodukte ansammelten.

In einem späteren Teil der Arbeit werde ich auf diese Einflüsse und auf die Wirkung, welche sie auf die individuellen Zellformen äußern, auf die sogenannten Involutionsformen, zurückkommen.

Wahrscheinlich ist es eine Folge dieser Einflüsse, daß das Wachstum in den älteren Teilen einer Kolonie nicht mehr so stark ist, wie an den Rändern, wo die Zellen noch günstigere Ernährungsbedingungen vorfinden und kräftig fortwachsen können. Infolge dieses ungleichen Wachstums gewinnt die Kolonie, wenn sich die übrigen Bedingungen nicht ändern, eine flache, kreisrunde oder scheibenartige Form.

Zuweilen hört aus unbekannten Ursachen das Wachstum an einzelnen Stellen des Kolonierandes auf, während es in den übrigen Teilen ungestört fortdauert. Es nimmt dann die Kolonie eine unregelmäßige Gestalt an; Fig. 1 bringt ein Beispiel.

Ob das Vorkommen kleiner Flecken (vgl. Fig. 3, Taf. I Bac. subtilis-Kolonie) in den Kolonieen einiger Bakterien, ebenfalls auf Veränderungen der Ernährungsbedingungen zurückzuführen sei, lassen meine Untersuchungen nicht erkennen.

Preisz (37) mag vielleicht Recht haben, wenn er solche Flecken als sekundäre resp. tertiäre Kolonieen betrachtet. Die sekundären Ko-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lonieen entstehen durch Auskeimung und neues Wachstum von Sporen; es sind Kolonieen, die auf dem primären Rasen aus Sporen desselben hervorgegangen sind, Kolonieen 3. Generation entstehen dann weiter aus den Sporen der zweiten.

Die pyramiden- oder urnenförmigen Teile, die man häufig an Kolonieen von Hefen beobachtet, sind wahrscheinlich die Folge biologischer Verschiedenheiten der Zellen in verschiedenen Teilen der Kolonieen (vergl. Abbild. 49, Taf. III, Lindners Betriebskontrolle).

Häufig findet man an solchen Bildungen rhizoidartige Anhänge und diese verhalten sich indifferent gegen das Licht (s. weiter unten).

Ich konnte dies an Kolonieen von Saccharomyces cerevisiae Lindner 86 beobachten, deren größter Teil konzentrische Ringe zeigte und ein stark ausgebildetes Mycel besaß, während die dickeren Kreisausschnitte keine Ringe und kein oder nur ein geringes Mycel gebildet hatten. Hier haben wir es mit einer individuellen Differenzierung der Zellen zu tun, mit Erscheinungen, welche nicht mit denjenigen verwechselt werden dürfen, die infolge von Oberflächenspannung entstehen.

### 6. Einfluß der Beweglichkeit auf die Kolonieenform.

Bei meinen zahlreichen genauen Beobachtungen konnte ich viele Fälle von Beweglichkeit der Mikroorganismen auf festem Nährboden feststellen.

Daß Organismen sich auf der Oberfläche von Gelatine bewegen, die sich leicht partiell verflüssigen, hat nichts Auffälliges. Dagegen ist es merkwürdig, daß auch auf Agar eine Bewegung stattfindet, was ich bei vielen beweglichen Bakterien in den ersten Tagen der Koloniebildung konstatieren konnte. Meistens bestand diese Bewegung nur in einem Hin- und Herpendeln, öfters aber schwammen auch die Bakterien weit von der Kolonie fort und wuchsen zu einer neuen Kolonie aus.

Diese Bewegung muß selbstverständlich einen gewissen Einfluß auf die Form und das Aussehen der Kolonieen ausüben, und es schien mir daher wünschenswert, die Bedingungen, durch die eine solche Bewegung ermöglicht wird, näher zu studieren.

Wenn Bakterien auf Agar aus einer Kolonie auswandern sollen, so muß in der nächsten Umgebung der Kolonie Wasser vorhanden sein. Je größer die vorhandene Wassermenge ist und je langsamer der Agar austrocknet, um so deutlicher wird der Einfluß der Beweglichkeit der Bakterien auf die Gestalt der Kolonie hervortreten.

Die Umstände, die zur Ansammlung von Wasser auf der Oberfläche des Agars führen können, schienen mir folgende zu sein:

1) Kondensation von Wasserdampf der umgebenden Luft auf der Oberfläche des Nährmediums;

2) Ausscheidung von Wasser durch Zusammenziehung des Agars;

3) Fähigkeit der Bakterienkolonieen, Wasser aus dem umgebenden Medium anzuziehen.

In Bezug auf die Kondensation von Wasser bei schrägen Agarkulturen sagt Günther (11): „Beim Erstarren preßt der Nähragar Wasser aus, welches sich später, nachdem man die Röhrchen vertikal hingestellt hat, in den abhängigen Teilen derselben ansammelt. Dieses Kondenswasser verdunstet bei längerer Aufbewahrung der Agarröhrchen allmählich. Sein Verschwinden zeigt uns an, daß der Nährboden nicht mehr die für Kulturzwecke wünschenswerte Feuchtigkeit besitzt; denn nur solange das

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kondenswasser vorhanden ist, befindet sich die Oberfläche des Nährbodens dauernd in einer feuchten Atmosphäre."

Demnach scheint Günther das Austreten von Wasser aus dem Agar durch Zusammenziehung und die Kondensation des Wassers gar nicht zu unterscheiden, während sie meiner Meinung nach auseinander gehalten werden sollten.

Um zu bestimmen, ob Kondensation in einem solchen Maße stattfände, daß dadurch Bewegung der Organismen ermöglicht würde, oder ob der Nähragar hygroskopische Eigenschaften besäße, d. h. Wasser aus wassergesättigter Luft zu absorbieren im stande wäre, und um die Verhältnisse verschiedener Konzentrationen des Agars näher kennen zu lernen, machte ich folgende Versuche:

Drei gutschließende Petri-Schalen wurden mit ungefähr 10 ccm Fleischwasser-Peptonagar beschickt, nach dem Erkalten gewogen und dann verschiedenen Einflüssen ausgesetzt:

Agarplatte A blieb geschlossen im Laboratorium stehen;

Agarplatte B wurde ohne Deckel in einer grossen, feuchten Kammer und die

Agarplatte C, ebenfalls ohne Deckel, frei im Laboratorium aufgestellt.

Von Zeit zu Zeit wurden die Platten gewogen, was jedesmal für eine Platte etwa 10 Sekunden Zeit erforderte; der Verlust, der in dieser Zeit durch Verdunsten von Wasser stattfand, wurde durch Kontrollversuche ermittelt und entsprechend berücksichtigt.

Die Ergebnisse sind in der beigegebenen Tabelle übersichtlich zusammengestellt. Man kann daraus folgendes ersehen: Die Platten A und B erlitten einen Verlust an Wasser, der mit der Zeit wuchs und selbstverständlich bei Platte A am größten war. Die kleine Gewichtszunahme, welche in einigen Fällen die Platte B erfuhr, kann nur durch unvermeidliche geringe Temperaturschwankung erklärt werden.

Verlust der Agarplatten an Wasser.

| | A. Petri-Schale, geschlossen | | | | B. Petri-Schale, offen (in wassergesättigtem Raum) | | | C. Petri-Schale, offen (an der Luft) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Nach 6 Std. Proz. | Nach 24 Std. Proz. | Nach 2 Tag. Proz. | Nach 9 Tag. Proz. | Nach 6 Std. Proz. | Nach 24 Std. Proz. | Nach 2 Tagen Proz. | Nach 6 Std. Proz. | Nach 24 Std. Proz. |
| 0,75 Proz. Agar | 2,0 | 9,0 | 19,7 | 69,9 | 1,52 | 1,82 | 1,76 | 47,2 | 90,7 |
| 1,0 " " | 1,6 | 5,3 | 15,4 | 58,7 | 1,80 | 1,86 | — | 39,2 | 88,7 |
| 1,5 " " | — | — | — | — | 1,70 | 1,52 | 1,36 | 32,5 | 76,1 |
| 2,0 " " | 1,1 | 6,2 | 14,3 | 55,3 | 1,03 | 1,01 | 0,91 | 19,1 | 78,8 |
| 3,0 " " | 2,0 | 8,3 | 18,1 | 66,2 | 1,21 | 1,51 | 1,37 | 19,75 | 77,7 |
| 5,0 " " | — | — | — | — | 1,08 | 1,80 | 2,44 | 26,5 | 85,4 |

Eine etwaige Kondensation von Wasser auf Plattenkulturen, die in einem mit Wasserdampf gesättigten Raum stehen, kann nur vorkommen, wenn die Temperatur zurückgeht und dies ist beim Experimentieren manchmal kaum zu vermeiden.

Wenn infolge der täglichen Temperaturschwankungen der umgebenden Luft innerhalb einer bedeckten Petri-Schale Niederschläge von Feuchtigkeit auf den Nährboden stattfinden, so kann der hiermit verbundene

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wechsel in der Feuchtigkeit sehr wohl Unregelmäßigkeit im Heranwachsen der Kolonie veranlassen.

An Agarplattenkulturen kann man sehr häufig wahrnehmen, daß Wasser aus ihnen in Form größerer oder kleinerer Tropfen austritt. Wahrscheinlich ist dies eine Folge der Zusammenziehung des Agars, die bei der Abkühlung stattfindet.

Günther (11a) schreibt hierüber: „Häufig erlebt man es, namentlich ist das bei Schälchenkulturen der Fall, daß nach 24 Stunden die gesamte Oberfläche der Agarschicht sich mit einer gleichmäßigen Bakterienwucherung bedeckt zeigt. Es handelt sich hier um die Eigentümlichkeit des Agars, beim Erstarren Wasser auszupressen; die Oberfläche überzieht sich mit einer Schicht derartigen ‚Kondenswassers' und diese Wasserschicht wird dann sehr leicht zu einem Vermehrungsort von Bakterien."

Wie die angefügte Tabelle zeigt (A und C), schwankt der Verlust der Platten an Wasser sehr stark mit der Konzentration des Agars und ist am kleinsten bei 2-proz. Agar. In dem Maße, in dem die Konzentration des Agars zunimmt, wächst auch die Menge des ausgepreßten Wassers, welches dann leicht verdunstet.

Bei weniger konzentriertem Agar bildet das Wasser eine dünne, über die ganze Oberfläche der Platte ausgebreitete Schicht, wogegen es sich aus konzentriertem Agar in Form von Tropfen ausscheidet, zwischen denen der Agar relativ trocken bleibt. Die eben beschriebene Erscheinung ist früher schon beobachtet worden von Koch, v. Freudenreich, Zabolotny u. a.

Bei allen Versuchen, bei denen eine sterile Platte zur Erzielung einer regelmäßigen Kolonie geimpft wurde, blieb die Platte vor dem Impfen längere Zeit stehen, damit die ausgeschiedene Flüssigkeitsschicht vorher verdunsten konnte.

Die Kontraktion des Agars kann also eine Wasseransammlung an der Oberfläche bewirken und dadurch den Bakterien die Möglichkeit zur Fortbewegung verschaffen; aber auch bei den Platten aus verdünntem Agar, welche durch mehrtägiges Stehen an der Oberfläche getrocknet waren, konnte einige Zeit nach dem Impfen, namentlich nachdem die Kolonie einige Tage alt geworden war, regelmäßige Bewegung beobachtet werden.

Wenn irgendwelche Bakterienkeime in dieses ausgepreßte, an der Oberfläche angesammelte Wasser gelangen, werden sie (wenn sie nicht selber beweglich sind) durch die leisesten Strömungen fortgetragen und über die Oberfläche des Agars verbreitet, bis sie beim Verdunsten des Wassers an irgend einer Stelle zur Ruhe kommen. Durch ihr späteres Auswachsen entstehen sogenannte Tochterkolonieen.

## 7. Die hygroskopischen Eigenschaften der Bakterienkolonieen.

Die eben besprochene, oft lange andauernde Bewegung von Bakterien auf Agar läßt sich auf eine immer weiter fortschreitende Kontraktion des Agars nur gezwungen zurückführen. Wahrscheinlich ist es, daß die Bakterienkolonieen hygroskopische Eigenschaften besitzen. Diese Meinung ist schon früher von Bremer (12) für Schimmelpilzkolonieen ausgesprochen worden, der sagt: „Das Wachstum der Pilze ist stets mit einem Verlust an organischer Substanz, aber mit einer Zunahme an Wasser, ohne Zweifel infolge von Atmung, verbunden." (Forts. folgt.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Wenn auch in Nährflüssigkeit 5 die Vermehrung eine geringe ist, so befanden sich die Zellen doch mit wenigen Ausnahmen in guter Verfassung, ein Zeichen, daß nicht alle vorliegende Organismen in dieser Nährflüssigkeit gleich ungünstige Ernährungsbedingungen finden.

Keine Beeinflussung der Form und Größe der Zellen.

No. 11. Gleicht hinsichtlich der Schnelligkeit, mit welcher die Entwickelung überhaupt auf den Nährflüssigkeiten erfolgt, der Art No. 3 und 4, bleibt jedoch hinter dieser zurück. Eine geschlossene Haut ist erst am vierten bezw. sechsten Tage vorhanden. Die Entwickelung der Haut erfolgt auf den Nährflüssigkeiten 1 und 4 rascher als auf den übrigen, auf Nährflüssigkeit 2 holt sie jedoch diejenige auf 1 später wieder ein. Die Entwickelung der Art geht also ebenfalls hauptsächlich auf der Flüssigkeitsoberfläche vor sich und sind dementsprechend anfangs die Absätze nur sehr gering. Später werden sie durch zu Boden sinkende Hautstückchen vermehrt und erhalten hierdurch eine lockere Beschaffenheit.

Auf Nährflüssigkeit 5 findet weder Haut- noch Ringbildung statt.

Nach 1 Monat sind sämtliche Nährflüssigkeiten, soweit die Hautbildung nicht gestört wurde, von einer mattweißen, glatten Haut überzogen.

Die Nährflüssigkeiten blieben klar.

Nährflüssigkeit 4 ist deutlich zitronengelb gefärbt. Die gleiche Färbung zeigt der Ring in Nährflüssigkeit 1, 2 und 4.

Form und Größe der Zellen entspricht den früher gemachten Angaben; nur in Nährflüssigkeit 5 sind die Zellen durchschnittlich kleiner.

No. 5. Beginnt verhältnismäßig frühzeitig (3.—4. Tag) mit der Entwickelung einer Oberflächenvegetation in Form eines Ringes und einer Haut. Letztere fängt mit der Entstehung kleiner Hautinselchen an, durch deren Zunahme an Zahl und Umfang allmählich eine mehr oder minder geschlossene, mattweiße Haut entsteht. Der innere Zusammenhalt der Haut ist kein fester und sie kommt auch aus diesem Grunde meist zu keiner stärkeren Ausdehnung. Die Oberflächenvegetation fällt in mehr oder minder großen häutigen Stücken zu Boden. Faltungen fehlen. Die Hautentwickelung ist stärker auf Nährflüssigkeit 3 und 4 als auf 2 und auf dieser stärker als auf 1. Die Ringbildung ist unter den bestehenden Verhältnissen stärker als die Hautbildung, und zwar mit der gleichen Abstufung bei den verschiedenen Nährflüssigkeiten wie bei der Hautbildung. Die Absätze, deren Umfang zum Teil von der Nährflüssigkeit, zum Teil von den zu Boden gesunkenen Hautfetzen abhängt, liegen meist locker; sie sind sehr feinflockig und heben sich leicht in

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Form von Wolken. In Nährflüssigkeit 3 und 4 liegen jedoch die Absätze ziemlich fest in gleichmäßig ausgebreiteter Schicht.

Nährflüssigkeit 3, 4 und 5 blieb während der ganzen Beobachtungszeit klar, 1 und 2 jedoch trübe.

In Nährflüssigkeit 5 weder Ring- noch Hautbildung nach einem Monat. Geringe, sehr lockere Absätze.

Absatz schleimig, fadenziehend, mit Ausnahme von Nährflüssigkeit 5.

Zellform durch die Zusammensetzung der Nährlösung nicht beeinflußt.

No. 7. Ist eine ausgesprochen schleimbildende Art, die sich von No. 5 dadurch unterscheidet, dass sie den Bodensatz bezw. die Nährflüssigkeit nicht fadenziehend macht. Die Entwickelung ist wie bei No. 6 eine sehr träge und erfolgt anfangs nur innerhalb der Nährflüssigkeit, die auch, abgesehen von der Nährflüssigkeit 5, in allen Fällen trübe bleibt, in Form von gallertig-schleimigen Kolonieen. Diese sind auch später noch in Form von Flocken deutlich sichtbar.

Ringbildung erfolgt, wieder abgesehen von der Nährflüssigkeit 5, in allen übrigen früher oder später, und zwar vor oder nach der Hautbildung. Zuweilen geht diese von dem festhaftenden, schleimig-gallertigen Ringe aus, im übrigen erfolgt sie durch einzelne an der Oberfläche sich vereinigende Schleimflocken. Am stärksten ist die Ring- und Hautbildung auf Nährflüssigkeit 1 und 2, und es überzog nach einem Monat alle Kulturen eine starke, schleimige, farblose Haut, die geschlossen war, jedoch ungleichmäßig über die Flüssigkeitsoberfläche hervorragte.

Nährflüssigkeit 2 wurde fast völlig schleimig.

Weniger günstig für die Schleimbildung zeigte sich Nährflüssigkeit 3 und 4, bei welchen sich auch die Ringbildung in sehr bescheidenen Grenzen hielt.

Die Absätze blieben in allen Fällen von mäßigem Umfange, selbst in den Nährflüssigkeiten 1 und 2, und lagen sie bei schleimiger Beschaffenheit teils mit festem Gefüge in gleichmäßiger, festliegender Schicht, teils locker in Flocken am Boden.

In Nährflüssigkeit 5 war der mäßige Absatz häutig-schleimig und von ungleichmäßiger Dichte.

Keine Beeinflussung der Zellform, die den früher gemachten Angaben entspricht.

No. 8. Gehört zu den Arten, welche verhältnismäßig frühzeitig (4. Tag) mit der Entwickelung einer Oberflächenvegetation beginnen, und zwar in Form eines Ringes. Von diesem ausgehend bildet sich später auf der Oberfläche der Nährflüssigkeiten 1 und 2 eine schleimige[1]), weiße bis grauweiße Haut, die zwar bei völliger Ruhe geschlossen bleibt, jedoch sehr leicht zu Boden sinkt. Auf Nährflüssigkeit 3 und 4 entsteht im Gegensatz zu Nährflüssigkeit 1 und 2 die Haut durch Zusammenschluß zahlreicher kleiner, anfangs isolierter Hautinselchen, die jedoch ebenfalls sehr leicht zu Boden sinken. Die Haut ist anfangs mattweiß und faltig. Die starke, schleimige Haut auf Nährlösung 1 und 2 ist nach einem Monat hellbräunlich (lehmfarbig) gefärbt. Aehnlich verhält sich die Art in Nährlösung 5.

1) Nach gelegentlichen, außerhalb dieser Versuchsreihe liegenden Beobachtungen kann die Haut jüngerer Kulturen mit gehopfter Würze, wenigstens anfangs, auch trocken sein.

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Solange die Absätze nicht durch zu Boden sinkende Hautteilchen vermehrt werden, sind sie von geringem bis mäßigem Umfang; die Entwickelung innerhalb der Nährlösung ist also eine sehr geringe. Die Absätze liegen in gleichmäßiger Schicht sehr locker und werden durch die später zu Boden sinkenden Hautteilchen feinflockig und schleimig.

Die Nährflüssigkeiten 1, 2, 3 und 5 blieben klar; Nährflüssigkeit 4 war stark getrübt.

Nährflüssigkeit 3 und 4 wird schwach zitronen- bis orangegelb, der Absatz in Nährflüssigkeit 4 hell ockergelb gefärbt.

Größe und Form der Zellen entspricht den früheren Angaben.

## Zweite Gruppe.

No. 1. Obwohl der Organismus zu denjenigen Arten gehört, welche das Bestreben zeigen, sich an der Oberfläche zu entwickeln, so kam es, wenigstens innerhalb der Beobachtungszeit von einem Monat nicht zur Hautbildung. Es entstanden zahlreiche, farblose Inselchen auf der Oberfläche der Nährflüssigkeiten, welche aber immer wieder zu Boden sanken. Es fehlte ihnen also die Beschaffenheit, sich auf der Flüssigkeit zu halten. Aeltere Kulturen (1 Monat) sind teilweise völlig frei von Hautbildungen, dagegen ist die Ringbildung ziemlich stark. Am längsten hielten sich die Hautinselchen auf Nährflüssigkeit 3; zu einer geschlossenen Haut kam es jedoch auch hier nicht. Die Nährflüssigkeit blieb in allen Fällen klar.

Der Absatz liegt zum größten Teil in einer dünnen, ziemlich fest haftenden Schicht am Boden, zum geringsten Teil ist er grobflockig. Ein wesentlicher Unterschied nach der Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten macht sich hierbei nicht geltend.

Eine besondere durch die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit bedingte Wachstums- oder Zellform ist nicht vorhanden. Letztere stimmt mit den früheren Angaben überein. Im Ring (wie in der Haut) fast ausschließlich rundliche und ellipsoidische Zellen.

No. 9. Wenngleich bei dieser Art sehr frühzeitig (schon am 4. Tag) ein Oberflächenwachstum in Form eines Ringes sich bemerkbar machte, so war dieses jedoch kein intensives. Die Entwickelung des Ringes hielt sich in allen Nährflüssigkeiten, in welchen er überhaupt auftrat, in sehr mäßigen Grenzen, bei Nährlösung 5 kam ein solcher überhaupt nicht zustande. Hautbildung trat in keiner Nährflüssigkeit auf[1]).

Die farblosen Absätze sind je nach der Nährlösung mäßig bis stark; in Nährlösung 3 und 4 sind sie stärker als in Nährlösung 1, 2 und 5. In Nährlösung 1 und 2 liegen sie in gleichmäßig dichter Schicht fest an, während sie in den übrigen bei grobflockiger Beschaffenheit locker liegen.

Nährlösung 1 und 2 ist anfangs trübe, wird aber später völlig klar; die übrigen bleiben während der ganzen Entwickelung klar.

Form und Größe der Zellen entspricht den früheren Angaben. Vorherrschend sind Sproßverbände langgestreckter Zellen. Im Ring nur kugelförmige und ellipsoidische. (In älteren — 1 Monat — Hautbildungen auf gehopfter Würze nahezu ausschließlich langgestreckt-wurstförmige Zellen.) In der Nährlösung 5 ist unter den gestreckten Zellen häufig Spindel- bis Apiculatus-Form.

1) Auf gehopfter Würze entwickelt sich bei sehr ruhig stehenden Kulturen eine Haut.

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

No. 10. Bei dieser Art entsteht ebenfalls auf fast allen Kulturflüssigkeiten (ausgenommen No. 5) eine Oberflächenvegetation und zwar sehr frühzeitig (auf Nährlösung 1 und 2 am 4. Tag), zunächst in Form eines Ringes, später auch in Form von Hautbildungen, welche von einzelnen Inselchen ausgehen. Die Vermehrung des Organismus ist jedoch eine sehr langsame und es dauert infolgedessen auch sehr lange, bis die Haut geschlossen ist und zu stärkerer Entwickelung kommt. Nach einem Monat höchstens einzelne Inselchen von mäßigem Umfang. Ringbildung mäßig.

Die Entwickelung erfolgt anfangs hauptsächlich in der Flüssigkeit. Die Absätze sind im allgemeinen mäßig, stärker in Nährlösung 4. Sie liegen meist locker in gleichmäßiger Schicht. In Nährlösung 1 haften sie fester; in Nährlösung 4 sind sie grobflockig. Die Nährlösungen 1 und 2 sind anfangs trübe, werden aber später völlig klar; die übrigen sind von Anfang an klar und bleiben es auch.

Größe und Form der Zellen entspricht den früheren Angaben, ebenso das Mengenverhältnis der verschiedenen Zellformen. In Nährlösung 4 sind im Ring kleine, rundliche Zellen vorherrschend. Im Absatz sehr reichlich Sproßverbände langgestreckter, zuweilen sehr dünner Zellen. In älteren — 1 Monat — gut entwickelten Hautbildungen auf Nährlösung 1 langgestreckte Zellen in großen Sproßverbänden sehr reichlich. In Nährlösung 5 fast ausschließlich rundliche und ellipsoidische Zellen von der früher angegebenen Größe.

No. 2. Verhält sich nahezu gleich wie No. 1. Die Schnelligkeit, mit welcher sich die Haut entwickelt, ist etwas geringer und außerdem halten die Inselchen etwas länger auf der Flüssigkeitsoberfläche aus, so daß es auf Nährlösung 4 zu einer völlig geschlossenen, farblosen Haut kam, die jedoch nach einem Monat wieder Lücken aufwies. Auch auf Würze findet Hautbildung statt. Ring mäßig bis stark.

Die Absätze sind, trotzdem die Hautbildungen besser auf der Flüssigkeitsoberfläche haften bleiben, stärker als bei No. 1. Die Beschaffenheit der Absätze ist ähnlich derjenigen von No. 1, nur ist die locker liegende Partie meist feinflockig.

Die Nährflüssigkeiten blieben in allen Fällen klar.

Keine Beeinflussung der Form der Zellen durch die Zusammensetzung der Nährlösung. In den Hautbildungen treten die gestreckten Zellen meist zurück.

No. 15. Entwickelt sich in erster Linie auf der Flüssigkeitsoberfläche, und zwar sehr rasch, ist also eine von den ausgesprochen sauerstoffliebenden, hautbildenden Arten. Günstige Ernährungsbedingungen findet sie jedoch nur auf Nährlösung 1 und 2, und zwar ist auf beiden das Wachstum nahezu gleich rasch, vielleicht auf Nährlösung 2 noch etwas besser als auf 1. Schon am 4. Tage überzieht eine mattweiße Haut, die bei 2 schon grob, gekröseartig gefaltet ist, die Flüssigkeitsoberfläche, während nur geringe lockere Absätze vorhanden sind. Die Entwickelung ist stärker als bei gleichalterigen Kulturen von No. 3 und 4, und es ist dementsprechend auch die Faltung stärker. In den Nährlösungen 3 und 4 kommt es selbst innerhalb eines Monates weder zur Haut- noch Ringbildung. Die Entwickelung innerhalb der Flüssigkeit in Form von Absätzen ist eine geringe bis mäßige; in Nährlösung 3 sind sie etwas geringer als in 4. Absätze feinflockig.

In allen Fällen bleibt die Flüssigkeit klar.

Form und Größe der Zellen wie früher angegeben in Nährlösung 1

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und 2. In Nährlösung 3 sind fast ausschließlich ellipsoidische Zellen von 2—4 $\mu$ Durchmesser vorhanden; vereinzelte keulenförmige oder gestreckt-ellipsoidische Zellen. In Nährflüssigkeit 5 fast ausschließlich kugelförmige Zellen von den früher angegebenen Dimensionen. Wo gestreckte Zellformen vorhanden sind, besitzen sie fast ausnahmslos abnorme Gestaltung. Die kugelförmigen Zellen in sehr reichen Sproßverbänden; Kronenbildung.

Bei Nährlösung 3 und 5 also ganz wesentlicher Einfluß auf die vorherrschend wachsende Zellform.

No. 16. Entwickelt sich ebenfalls hauptsächlich auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit, zur Bildung einer geschlossenen Haut kommt es aber nur sehr schwer, da die Inselchen sich auf der Flüssigkeitsoberfläche nicht halten können; infolgedessen ist nur in sehr alten, ruhig stehenden Kulturen eine geschlossene, matte, kreideweiße Haut vorhanden, während sich viel früher ein sehr starker Ring entwickelt.

Im allgemeinen besteht hinsichtlich der Schnelligkeit, mit welcher die Hautwickelung und die dieser äquivalente Ringbildung in den verschiedenen Nährlösungen erfolgt, kein wesentlicher Unterschied, immerhin ist die Entwickelung auf Nährflüssigkeit 4 etwas voraus. Hautinselchen bezw. Ringbildung schon am 2. Tage vorhanden. Die dünne Haut ist anfangs matt, farblos. Auch auf Nährflüssigkeit 4 können sich die Hautinselchen schwer halten und es kommt auch hier, trotzdem die Hautentwickelung etwas rascher vor sich geht, nur schwer zu einer geschlossenen Haut.

Die Menge des Absatzes ist unter diesen Umständen sehr wechselnd, da er wesentlich durch die zu Boden gesunkenen Hautinselchen vermehrt wird. Die Absätze haften teilweise in gleichmäßiger Schicht ziemlich fest, teilweise sind sie mehr oder minder grobflockig.

Die Nährflüssigkeit bleibt in allen Fällen klar. In Nährflüssigkeit 5 sind nach einem Monat fast nur Spuren eines Absatzes vorhanden. Nach $1\frac{1}{2}$ Monaten ganz geringe Hautbildungen in Form sehr kleiner Inselchen.

In Nährflüssigkeit 2 ist der Ring schwach gelblich gefärbt.

Form und Größe der Zellen wie früher angegeben. In der Haut von Nährlösung 3 und 4 vorherrschend rundliche Zellen von sehr verschiedener Größe. Sehr wenige Sproßverbände gestreckter Zellen; große Apiculatus-ähnliche Zellen.

Sehr starke, grobflockige Absätze mit allen früher angegebenen Zellformen. Sehr reichlich Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen. Zellen in den Flocken des Absatzes sehr fest verklebt. Auch in Nährflüssigkeit 5 haben die wenigen größeren und kleineren Flocken einen sehr festen Zusammenhalt.

### Dritte Gruppe.

No. 12. Gehört zu den Arten, deren Entwickelung fast ausschließlich an der Flüssigkeitsoberfläche erfolgt. Die Wachstumsform ist eine sehr charakteristische und tritt insbesondere auf Würze hervor (siehe später). Schon am 2. Tage sind auf den Nährflüssigkeiten 1—4 kleine Hautinselchen vorhanden, die mit verschiedener Schnelligkeit und den charakteristischen Erscheinungen an Umfang zunehmen. Zuerst, und zwar schon am 6. Tage, war die Nährflüssigkeit 3 von einer ungemein stark entwickelten, grobgefalteten Haut bedeckt, während sich auf den übrigen erst noch Hautinselchen von verschiedenem Umfang befanden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Reihenfolge der Nährflüssigkeiten nach der Schnelligkeit, mit welcher die Vermehrung stattfand, ist 3, 4, 2, 1. Nach einem Monat war die Haut auf Nährflüssigkeit 1 noch immer nicht geschlossen und beschränkte sich auf eine große Anzahl der charakteristischen Hautinselchen. In den übrigen Kulturen bedeckte zwar die Oberflächenvegetation die Nährflüssigkeiten vollständig, jedoch zeigt die Haut einen verschiedenen Grad der Ausbildung. Auf der Nährflüssigkeit 1 und 2 besitzt sie noch das Aussehen erstarrten, geschmolzenen Fettes und ist noch glatt. Auf Nährflüssigkeit 3 erscheint sie bei glasig-weißer Färbung grob gefaltet. Die Absatzbildung ist eine sehr mäßige und besteht in der Hauptsache aus zu Boden gesunkenen Hautstückchen.

Größe und Form der Zellen stimmt in allen Nährlösungen, ausgenommen No. 5, mit den früheren Angaben überein. In Nährflüssigkeit 5 stellen die Zellen ein buntes Gemisch der verschiedenartigsten Formen und Größen dar. Vorherrschend sind einerseits sehr kleine, kugelförmige und ellpsoidische Zellen (2—4 $\mu$) und andererseits sehr große (8—9 $\mu$) kugelförmige. Zahlreiche wurstförmige, überhaupt langgestreckte Zellen, die aber vielfach ganz abnorme Formen zeigen. Der Gesamteindruck ist der, daß sich die Zellen in der Nährlösung nicht wohl befinden.

Die Hayducksche Nährlösung (5) erscheint kaum zur Charakterisierung der vorliegenden Organismen geeignet. Von Interesse ist, daß sie überhaupt in dieser Lösung zu wachsen vermögen, und zwar teilweise (z. B. No. 2) ziemlich stark. Am besten gedeihen sie im allgemeinen in Nährflüssigkeit 3 (Hefewasser + 6 Proz. Saccharose), dann folgt Nährflüssigkeit 1 und 2 (gehopfte und ungehopfte Bierwürze), hierauf Nährflüssigkeit 4 (Hefezuckerwasser + 0,5 Proz. Pepton). In Nährflüssigkeit 3 und 4 waren die Vegetationen durchweg am kräftigsten entwickelt[1]).

### c) In Bier.

Schon in der I. Mitteilung war über einen Versuch berichtet worden, durch welchen die Fähigkeit der vorliegenden Organismen, sich in Bier zu entwickeln, dargetan werden sollte. Ueber die hierbei auftretenden Wachstumserscheinungen sowie die Morphologie der Zellen in dieser Nährflüssigkeit wurde auf eine spätere Mitteilung verwiesen.

In Kürze sei zunächst die Versuchsanstellung selbst wiederholt.

Kleine Erlenmeyer-Kolben wurden im Dampftopf sterilisiert und dann mit völlig klarem, nicht sterilisiertem Reinhefebier in Mengen von 20 ccm gefüllt. Dieses war durch Vergärung einer Würze von 12,3 Proz. B. mit einer reingezüchteten untergärigen Bierhefe in $^1/_1$ Liter-Pasteur-Kolben gewonnen worden. Die vergorene Würze wurde möglichst klar auf sterile Pasteur-Kolben abgezogen und während 5 Tagen zu wiederholtem Absitzen gebracht.

Das Bier enthielt 3,57 Gew.-Proz. Alkohol und 5,175 Proz. Extrakt. Eine Nachgärung trat während des Versuches sichtbar nicht mehr ein.

Das Einsaatmaterial war in Würze von 11,5 Proz. B. bei Laboratoriumstemperatur während 7 Tagen herangezüchtet worden und befand sich nach der mikroskopischen Untersuchung in guter Verfassung.

Die Impfgabe war eine verschiedene. Eine Versuchsreihe (a) erhielt in der früher angegebenen Weise eine Platinöse der Mischung,

1) Ueber die Wachstumserscheinungen in einer mineralischen Nährlösung von anderer Zusammensetzung vergl. später.

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

eine zweite (b) je 3 Tropfen derselben. Die Kulturen wurden im Laboratorium aufgestellt.

Im Laufe der Beobachtungen, welche sich auf 37 Tage ausdehnten, setzten sich einzelne Zellen der Bierhefe am Boden der Kulturkölbchen ab und entwickelten kleine, scharf umschriebene Kolonieen. Zwischen diesen war dann leicht zu erkennen, ob sich die eingesäten Organismen als Bodensatz vermehrten. Die vorherrschend und sehr rasch in Form von Häuten, also an der Flüssigkeitsoberfläche bei direktem Luftzutritt sich entwickelnden Formen gediehen im Bier am besten.

Bei Abschluß der Versuche waren die Formveränderungen der Kulturhefe, die sich im übrigen nach ihrem Glykogengehalt in gutem Zustande befand, sehr auffällig. Sie hatte häufig Sproßverbände langgestreckter, wurstförmiger Zellen gebildet. Am meisten fiel diese Erscheinung in Kulturen mit der Art No. 12 auf, bei welcher die Hefezellen eine ganz beträchtliche Länge aufwiesen und dabei zuweilen sehr dünn geworden waren. Aehnlich verhielten sich die Zellen in den Kulturen mit No. 15 und auch in denjenigen mit No. 17, wenn auch bei letzterer die Streckung nicht so weit ging. Bei den übrigen Arten machte sich zwar eine solche auch in höherem oder geringerem Grade geltend, jedoch niemals in dem Umfange wie bei den genannten. In den Kontrollgefäßen zeigten die abgesetzten Kulturhefezellen keine derartigen Veränderungen. Sehr wahrscheinlich kommt in diesen Formveränderungen eine Beeinflussung der Kulturhefezellen durch die Umsetzungsprodukte der Organismen (Säurebildung?) zum Ausdruck. Auffällig war auch, daß die Kulturhefe sehr häufig Dauerzellen gebildet hatte.

Im einzelnen sei über die Wachstumserscheinungen folgendes angeführt: Die beiden Versuchsreihen verhielten sich im allgemeinen gleich, nur dauerte naturgemäß die Entwickelung in der Reihe a mit geringer Einsaat länger als bei Reihe b, was auch bei Abschluß der Versuche durch schwächere Haut- und Absatzbildung zum Ausdruck kam. Eine Vermehrung der Einsaat blieb nur bei No. 7 und 8 aus. Im allgemeinen traten im Bier die gleichen Wachstumserscheinungen wie bei den anderen Nährflüssigkeiten auf.

### Erste Gruppe.

No. 3. Schon am 6. Tage bei Versuchsreihe a eine geschlossene, glatte, bei b eine gefaltete Haut; nach 19 Tagen stark, weiß, feingefaltet. Zellen, wie früher angegeben, sehr selten mit schlauchförmigen Auswüchsen. Keine Glykogenreaktion. Bier anfangs trübe, klärt sich später völlig auf. Hefige Absätze zwischen den Kolonieen der Kulturhefe.

No. 4. Wie No. 3, jedoch Hautentwickelung langsamer. Außerdem sind hier große Zellen (6—9 $\mu$) häufiger.

No. 6. Innerhalb 37 Tagen war äußerlich nur bei Reihe b eine Entwickelung durch eine eben angedeutete Ringbildung und durch einen minimalen Absatz zwischen den Kulturhefekolonieen bemerkbar. Keine Beeinflussung der Form und Größe der Zellen. Keine Glykogenreaktion.

No. 17. Nach 6 Tagen bei Reihe a geringe Haut mit großen Lücken und Ringbildung, bei b ziemlich starke, weiße, geschlossene Haut. Die Hautentwickelung ist bei b stärker als in älteren Kulturen der Nährflüssigkeiten 1—4 (siehe den vorhergehenden Abschnitt). Nach 37 Tagen sehr schwache, farblose Haut. Form und Größe der Zellen wie früher angegeben. Kein Glykogen. Mäßige, gleichmäßige Absätze.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. 11. Am 6. Tage bei Reihe a und b schwache, matte, noch nicht geschlossene, nach 37 Tagen mäßige, weiße, glatte Haut. Besteht vorherrschend aus sehr großen (5—9 $\mu$), kugelförmigen bis schwach ellipsoidischen Zellen mit einem, zuweilen auch 2 Oelkörperchen. Die großen Zellen sehr häufig mit abgelöster Hautschicht. In einzelnen Zellen schwache Glykogenreaktion. Zellen des gleichmäßigen Absatzes durchschnittlich kleiner.

No. 5. Am 6. Tage bei Reihe a keine Haut, Anfänge zur Ringbildung, bei b schwache, noch nicht geschlossene Haut; nach 19 Tagen bei a sehr schwache, noch nicht geschlossene, bei b stärkere, geschlossene Haut. Die Hautentwickelung geht also rascher als auf anderen Nährflüssigkeiten vor sich. Ringbildung. Zellform wie früher angegeben. In der Regel ein, häufiger auch 2 Oelkörperchen von gleicher oder verschiedener Größe. Zuweilen neben einem stark lichtbrechenden Körperchen im Plasma noch ein schwächer lichtbrechendes in der Vakuole, welches Glykogenreaktion gibt. In den geringen bis mäßigen Absätzen neben Zellen wie in der Haut Sproßverbände gestreckt-wurstförmiger und sehr häufig auch Apiculatus-ähnlicher Zellen. Auch in diesen Zellen in den Vakuolen diffuse oder an rundliche Körper gebundene Glykogenreaktion. Absatz nicht fadenziehend.

No. 7 und No. 8. Keine Entwickelung. Die eingesäten Zellen tot, geschrumpft.

### Zweite Gruppe.

No. 1. Nur Ringbildung, und zwar bei a nach 19 Tagen, bei b nach 6 Tagen. Mäßige, aus leichten Flocken bestehende Absätze. Im Ring ausschließlich, im Absatz vorherrschend kugelförmige bis ellipsoidische Zellen wie typische Torula-Zellen, durchschnittlich 2—3 $\mu$ groß. Im Absatz außerdem sehr häufig reich gegliederte Sproßverbände gestreckter, dünner Zellen (bis 12 $\mu$ : 1,6 $\mu$). Kein Glykogen.

No. 9. Erst zwischen dem 19. und 37. Tage kam eine sehr geringe Ringbildung zu stande. Absätze sehr gering. Zellen mit allen Erscheinungen, wie sie früher angegeben wurden. Etwas reichlicher Sproßverbände dünner, wurstförmiger Zellen. Kein Glykogen.

No. 10. Bei a und b nach 19 Tagen schwache Ringbildung und geringe Entwickelung im Absatz, die bis zum 37. Tage nicht wesentlich verstärkt ist. Zellen wie früher angegeben, jedoch ohne Krystalloid. Kein Glykogen.

No. 2. Nach 6 Tagen bei a schwache Hautbildung vom Rand her, schwacher Ring, bei b mäßige Hautentwickelung, noch nicht geschlossen, nach 37 Tagen geschlossen, während sie bei a noch immer Lücken aufweist. Sehr starker, feinflockiger Absatz. In der Haut fast ausschließlich kugelförmige und ellipsoidische Zellen (2—6 $\mu$, durchschnittlich 2 bis 3 $\mu$) meist mit einem, zuweilen auch mehr Oelkörperchen. Krystalloid. Vereinzelt gestreckte und Riesenzellen. Ring wie Haut, jedoch etwas häufiger gestreckt-ellipsoidische und selbst wurstförmige Zellen. Im Absatz neben Zellen wie in der Haut und im Ring ungemein reichlich sehr große, weit ausgedehnte, jedoch nur wenig verzweigte Sproßverbände langgestreckter, zuweilen mycelfadenartiger dünner (bis 2 $\mu$) Zellen. Kein Glykogen. Bier bei b anfangs schwach getrübt, klart bis zum 19. Tage etwas auf und ist nach 37 Tagen völlig klar.

No. 15. Bei a nach 6 Tagen schwache, noch nicht geschlossene Haut, bei b stärkere geschlossene, matte Haut, die nach 19 Tagen trocken,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glatt, mattweiß ist und bei a ebenfalls geschlossen erscheint. Stärkere, gleichmäßige, feinflockige Absätze. In der Haut finden sich im allgemeinen die früher angegebenen Zellformen. Kugelförmige Zellen wie typische Torula-Zellen sind vorherrschend. Ihre Dimensionen weichen insofern ab, als sie durchschnittlich größer (5 $\mu$; Max. bis zu 7 $\mu$) sind. Nicht selten diffuse Glykogenreaktion deutlich in der Vakuole. Im Absatz neben den Zellelementen wie in der Haut sehr zahlreiche, weitverzweigte Sproßverbände dünner, wurstförmiger Zellen (bis 16 $\mu$ : 1—2 $\mu$). Keine Glykogenreaktion.

No. 16. Nach 6 Tagen bei a schwache, noch nicht geschlossene Haut, bei b keine Haut; nach 19 Tagen bei a und b sehr schwache farblose Haut; nach 37 Tagen Haut etwas stärker, im allgemeinen aber schwach, jedenfalls schwächer als bei No. 15. Haut sinkt leicht zu Boden. Ziemlich starker, feinflockiger Absatz. Die Haut besteht vorherrschend aus kugelförmigen Zellen (3—6 $\mu$, vorherrschend 3—4 $\mu$) mit einem kleinen Oelkörperchen und einem Kristalloid. Nicht selten Apiculatus- und keulenförmige Zellen. Häufig Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen (bis zu 50 $\mu$ : 2 $\mu$) mit mehreren Oelkörperchen und Kristalloiden. Kein Glykogen. Im Absatz vorherrschend Sproßverbände langgestreckter Zellen.

## Dritte Gruppe.

No. 12. Die Hautentwickelung vollzieht sich sehr rasch, und zwar nicht mit den für Würze charakteristischen Erscheinungen, bei welcher die zuerst auftretenden Hautinselchen weniger in die Fläche als in die Höhe wachsen und wie erstarrte Fetttropfen aussehen. Vielmehr findet eine rasche Vermehrung in der Fläche statt und gleicht die Haut von Anfang an einer stärker entwickelten Haut von Mycoderma, in der jedoch selbst nach 37 Tagen noch die einzelnen Entwickelungszentren sichtbar sind. Infolge dieser Art der Vermehrung schließen sich auch die Hautinselchen sehr bald zusammen. Die Schnelligkeit, mit welcher die Oberflächenvegetation die Nährflüssigkeit überzieht, sowie die äußere Erscheinung der Haut ist derjenigen in Nährlösung 3 und 4 ähnlich.

Nach 6 Tagen Hautanfänge; nach 19 Tagen Haut noch nicht geschlossen, glatt, weiß, glasig; nach 37 Tagen starke, geschlossene Haut. Haut sinkt leicht zu Boden. Sie besteht vorherrschend aus Sproßverbänden spindelförmiger Zellen von verschiedener Länge. Daneben finden sich in großer Zahl kurze von Apiculatus-Form, ellipsoidische und selbst kugelförmige, wie bei den typischen Torula-Arten. Oelkörperchen und Kristalloide. Nicht selten deutliche Glykogenreaktion. Absätze gering, zum größten Teil zu Boden gesunkene Hautteilchen. Zellformen wie in der Haut. Die Zellen befinden sich in guter Verfassung und erscheint das zum Versuch verwendete Bier ein sehr geeigneter Nährboden für den vorliegenden Organismus.

Sehr rasch entwickeln sich also, und zwar hauptsächlich an der Oberfläche geeigneter Nährflüssigkeiten: No. 1, 2, 3 + 4, 11, 12, 15 und 16. Auch bei den übrigen Organismen erfolgt die Entwickelung einer Oberflächenvegetation, und zwar teilweise in Form eines Ringes, teilweise in Form einer Haut oder gleichzeitig in Form von beiden. Häute werden frühzeitig gebildet von No. 1, 2, 16 und 17, halten aber nicht so aus wie bei No. 3 + 4.

Eine gute Uebersicht über die wichtigsten Erscheinungen bei der Hautbildung wird die folgende Zusammenstellung geben, die sich auf



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen in gehopfter Bierwürze bei Zimmertemperatur beziehen und in den wesentlichsten Zügen mit denjenigen auf anderen Nährflüssigkeiten übereinstimmen. Die für jüngere Kulturen gemachten Angaben wurden an solchen, welche bis zu 14 Tagen alt geworden waren, fortlaufend beobachtet. Im übrigen sind sie bei den verschiedensten Versuchen u. s. w., bei welchen die Kulturen bis zu einem Jahr im geschlossenen Schrank sehr ruhig stehen blieben, gesammelt. Auf diese Weise darf man wohl erwarten, ein möglichst vollständiges Bild von allen Erscheinungen, welche überhaupt auftreten können, zu erhalten, während einzelne Kulturreihen bald da, bald dort überhaupt Lücken aufweisen oder die charakteristischen Erscheinungen mehr oder weniger verwischt sind.

Bei der Hautbildung der vorliegenden Organismen können 3 Typen[1]) unterschieden werden.

I. Typus.

Charakterisiert ist diese Hautbildung durch die gleichmäßige Entwickelung über die ganze Flüssigkeitsoberfläche hin. Die Entwickelung geht zwar hier ebenfalls wie beim II. Typus von sehr zahlreichen Entwickelungszentren aus, diese kommen aber nicht in der Weise wie bei jenen zur Geltung, da sie sich hauptsächlich in der Fläche ausbreiten und nur wenig in die Höhe wachsen. Sie verschmelzen rasch an den Berührungsstellen. Infolgedessen schließen sie sich sehr bald zu einer lückenlosen Haut zusammen. Die vorherrschende Wachstumsrichtung in der Fläche hat die charakteristischen Faltungen dieses Hauttypus zur Folge. Auf der gleichen Ursache beruht wahrscheinlich zum Teil die Erscheinung, daß die Häute an der Wandung des Kulturgefäßes in die Höhe steigen.

Die Entwickelung der Haut ist a) eine sehr rasche, b) eine langsame. In beiden Fällen faltet sie sich in der Regel mehr oder minder gekröseartig. Bei den sehr langsam sich vermehrenden Arten bleibt sie häufig glatt, da durch Herabsinken von Teilchen der Haut diese nicht stärker werden kann. Auch anfangs gefaltete Häute können später wieder glatt werden.

a) No. 3 + 4. Haut bedeckt bei Zimmertemperatur schon am 2. Tage die Würzeoberfläche vollständig. Starke, mehr oder minder fein bis grob gefaltete Haut von kreidig-weißer bis gelblich-weißer, bei älteren Kulturen von schmutzig-gelblicher bis gelb-bräunlicher Farbe. Haut trocken, beweglich, dehnbar, bleibt bei Bewegung der Kulturen an der Gefäßwandung hängen, steigt während der Entwickelung an dieser empor. Teilstücke der Haut schwimmen auf der Flüssigkeitsoberfläche (Lufteinschluß). In Hefezuckerwasser mit und ohne Zusatz von Pepton zitronengelbe Färbung.

No. 15. Schon am 3. Tage ist die Flüssigkeitsoberfläche von einer schwachen, matten, glasigen Haut überzogen. Sehr starke, grob gefaltete Haut von gelblich-weißer Farbe. Haut trocken, etwas glasig, beweglich, dehnbar, bleibt bei Bewegung der Kulturen an der Gefäßwandung hängen und steigt bei der Entwickeluug an dieser empor. Aeltere Häute glatt, weniger dehnbar (zerreißen bei stärkerer Bewegung), die Teilstücke schwimmen aber auf der Flüssigkeitsoberfläche. Lufteinschluß.

(Fortsetzung folgt.)

1) Diesen Typen können auch, soweit bis jetzt zu übersehen, die Saccharomyceten- und Mycoderma-Arten untergeordnet werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Pseudovakuolen in Hefezellen.

Von **J. J. van Hest.**

Mit 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

Fragen wir uns nun nochmals: Sind nun genügend Beweise geführt, daß die besprochenen Vakuolen auch wirklich Vakuolen oder Pseudovakuolen sind, dann kann die Antwort nicht zweifelhaft sein. Die festgestellten Tatsachen und Beobachtungen sind aber derartig, daß immer noch viele Fragen unaufgelöst bleiben.

Hieronymus (3) hat beobachtet, daß der Inhalt der Vakuolen mit Methylenblau rot gefärbt wird und schließt daraus auf die alkalische Natur des Protoplasmas und der sauren Reaktion des Vakuolenzellsaftes. Färbt man die Hefezellen mit Löfflerschem Methylenblau, dann findet man Zellen darunter, deren Vakuolen wirklich violett gefärbt erscheinen, während der übrige Teil der Hefezellen intensiv blau gefärbt ist. Ich erkläre diese Erscheinung nun auf folgende Weise: Löfflersche Methylenblaulösung besitzt eine intensiv blaue Farbe. Verdünnt man dieselbe auf das 1000fache mit destilliertem Wasser, dann bleibt die Farbe rein blau; läßt man jedoch einen Tropfen der Löfflerschen Methylenblaulösung längs der Wand eines Reagenzröhrchens laufen, dann erscheint die dünne Lage, welche an der Glaswand hängen bleibt, rein violett, manchmal aber beinahe rot. Dasselbe kann man auch an der Flasche beobachten, in welcher die Löfflersche Methylenblaulösung aufbewahrt wird. Der Farbstoff, welcher an der Glaswand über der Flüssigkeit sitzt, scheint bei durchfallendem Licht violett zu sein. Eine dünne Lage der Methylenblaulösung hat also bei durchfallendem Licht eine violette oder rotviolette Färbung. Da nun eine vakuolisierte Hefezelle nach meiner Meinung eine abgeplattete Hefezelle ist, welche an dem abgeplatteten Teil dünner ist, als an anderen Stellen des Zellkörpers, wird der Farbstoff den einen Teil violett, den anderen intensiv blau färben. Nach meiner Ansicht ist dieser Farbenunterschied eine rein optische und keine chemische Erscheinung, wie Hieronymus meint.

Wenn Löfflers Methylenblau ein Indikator wäre, welcher durch Säuren rot und durch Alkalien blaugefärbt wird, dann würde diese Frage nicht so bald gelöst werden können; nun aber, da Löfflers Methylenblaulösung nicht durch Schwefel-, Salz-, Salpeter-, Essig-, Milch-, Phosphor- und Fluorsäure rot gefärbt wird, kann von einer Rotfärbung des Methylenblau durch die saure Reaktion des Zellsaftes aus den Vakuolen keine Rede sein.

Hieronymus fand weiter in den Vakuolen zahlreiche, mehr oder weniger eckige, stark lichtbrechende Körnchen. Wenn nun daständе: „Hieronymus fand unter den Abplattungen in den Hefezellen zahlreiche etc.“, dann würde es mit dem übereinstimmen, was ich gefunden habe.

Pasteur (1) fand „daß diejenigen Hefezellen, welche während der Gärung in einer Bierwürze mit Luft in Berührung gewesen waren, weniger Vakuolen enthielten“. Setze ich nun an Stelle des Wortes Vakuolen, Pseudovakuolen, dann habe ich in gärender Bierwürze dasselbe bestätigt gefunden. Auf Plattenkulturen von Malzgelatine trifft



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieses jedoch nicht zu; da hat die Hefe viel Luft und enthält beinahe immer sehr viele Pseudovakuolen.

Setze ich in dem Zitat von Raum (2) an Stelle von Vakuolen „Pseudovakuolen“, dann werden seine Resultate durch die meinigen großenteils befestigt.

Dangeard (4) untersuchte gefärbte Leichen von Hefezellen; da ich aber ausschließlich lebende Zellen untersuchte, sind unsere Resultate nicht miteinander zu vergleichen.

Wager (5) spricht von Chromatinvakuolen. Diese Chromatinvakuolen sind vielleicht kleiner als die Vakuolen, welche ich untersuchte, und können bei meiner Besprechung außer Betracht bleiben.

Duclaux (11) nennt in den Abbildungen Fig. 70, Levure haute de vin de champagne, und Fig. 71 Autre levure haute de vin de champagne, dieselben Figuren Vakuolen, welche ich für Pseudovakuolen halte.

Guilliermond (6) teilt die Vakuolen in große und kleine Vakuolen, ohne jedoch ein Maß für die großen oder kleinen anzugeben.

Klöcker (7) gibt folgende Definition von Vakuolen: „Unter Vakuolen versteht man: Hohlräume in den Zellen, die mit Zellsaft gefüllt sind.“ „Hohlräume“ von unbekannter Form und Größe „die mit Zellsaft gefüllt sind“ ohne nähere Mitteilung, wie der Zellsaft nachgewiesen ist, gibt eine Definition von Vakuolen, die, um verständlich zu sein, noch verbessert werden muß.

Die weiteren Erscheinungen lichtbrechender Körperchen, welche in den Vakuolen in steter Bewegung sind, stimmen insofern mit meinen Beobachtungen überein, als diese Körperchen nicht in den Vakuolen, sondern unter den Pseudovakuolen sitzen.

In Lafar (8) finden wir: „Die Hefezellen besitzen außer einer oder zwei größeren Vakuolen meist noch eine Anzahl kleinerer. Bisweilen finden sich viele kleine Vakuolen im Plasma vor, so daß es schaumig erscheint. Die Vakuolen sind mit Zellsaft gefüllt.“

Hier fehlt jedoch das Maß der kleinen und großen Vakuolen.

Weiter finden wir in Lafar (8) 7. Lieferung, p. 65, bearbeitet von H. Will: „Die lichteren, durch eine helle Linie scharf begrenzten Räume des Zellinhaltes werden als Vakuolen oder auch als Safträume bezeichnet. Sie sind von einer wässerigen Flüssigkeit erfüllt, über deren Zusammensetzung nichts bekannt ist.“ „Werden als Vakuolen oder auch als Safträume bezeichnet“, klingt schon nicht mehr so positiv als: Sind Vakuolen, die mit Zellsaft erfüllt sind.

R. Schander hat beobachtet, daß der Vakuoleninhalt bei Gegenwart gewisser Magnesiumverbindungen in künstlichen Nährlösungen rot färbt. Ich habe einige Versuche mit Magnesiumverbindungen nachgeprüft, aber keine rotgefärbten Vakuolen gefunden. Da jedoch die Anzahl dieser Proben sehr gering war, darf ich sie nicht den Untersuchungen Schanders gegenüberstellen.

H. de Vries (12) hält die Wand der Vakuolen für ein besonderes Organ des Protoplasmas und nennt dieses Organ Tonoplast. N. H. Swellengrebel (13) stellt sich auf die Seite de Vries' und nimmt also auch eine Vakuolenwand an.

Migula (14) konnte durch Plasmolyse bei dem großen *Bacillus oxalaticus* feststellen, daß der Protoplast sich im ganzen von der Wand zurückzog, und daß die große zentrale Vakuole zu einer sehr unansehnlichen verkleinert wurde oder oftmals ganz verschwand.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Swellengrebel (13) fand, daß Preßhefe beim Plasmolysieren mit unverdünntem Glycerin während der Kontraktion des Protoplasten die Vakuole zuerst ihre regelmäßig runde Gestalt verliert, sie wird auf der einen oder anderen Seite abgeplattet; die Abplattung wird bald zu einer Einschnürung, worauf eine Teilung der Vakuole stattfindet. Diese Teilung schreitet fort und bald werden die Teilungsprodukte so unansehnlich, daß man sie nicht mehr nachweisen kann.

Migula und Swellengrebel sahen also die großen Vakuolen kleiner werden und manchmal ganz verschwinden, ohne jedoch zu wissen, wo die Tonoplasten mit ihrem Inhalt blieben. Dieselben Untersuchungen von Swellengrebel hatte ich früher schon mit Bierhefe gemacht und sie nach der Veröffentlichung von Swellengrebels Arbeit nochmals wiederholt, wobei ich ebenso wie er die meisten Vakuolen verschwinden sah. Da ich jedoch die Vakuole als einen Eindruck oder Abplattung in die Membran betrachte, welche durch den starken osmotischen Druck in der Zelle herausgedrückt wird, war dieses Verschwinden für mich sehr natürlich.

Aber wie muß man das Verschwinden eines organischen Körpers erklären, dessen Durchmesser von 2,5 bis 10 $\mu$ wechselt, welcher eine Wand hat, die man Tonoplast nennt und mit einer Flüssigkeit gefüllt ist, die den Namen Zellsaft trägt?

Es ist also kein unsichtbarer Geist, sondern reine Materie (Stoff). Ueber das Gesetz von der Erhaltung des Stoffes brauchen wir hier nicht mehr zu streiten. Ein stoftliches Objekt besteht oder es besteht nicht. Besteht ein stoffliches Objekt tatsächlich, dann kann weder dieses Objekt noch ein Teil desselben in eine nicht stoffliche Form übergehen, Migula und Swellengrebel (nebst zahlreichen anderen) bekennen sich aus den Schattenbildern in den Bakterien zu der stofflichen Form (Vakuole). Sie behaupten beide, daß die Vakuole verschwinden kann, daß also die stoffliche Form in unstoffliche übergehen kann. Solche Anschaungen sind jedoch nach unseren Begriffen unmöglich. Ist die Vakuole ein stoftliches Objekt, dann ist die Beobachtung, daß sie bei Plasmolyse als ein unsichtbares Wesen verschwindet, falsch. Ist dagegen die letzte Beobachtung von dem Verschwinden der Vakuolen richtig gewesen, dann ist auch die Vakuole kein stoffliches Objekt, sondern nur ein Scheinblld gewesen.

Swellengrebel plasmolisierte die Hefezellen mit hypertonischen Lösungen + Eosin, so schwach, daß die Vakuolen nicht ganz verschwanden. Hierbei sah er eine Zelle, deren Protoplasma schon eine dunkelrote Farbe angenommen hatte, während die Vakuole noch gar nicht tingiert war; „die Vakuolenwand war also noch lebendig. Die Zellsaftblase hob sich als eine helle Kugel von dem dunkeln Hintergrunde des Protoplasmas ab.

Beim Nachmachen dieser Untersuchungen bekam ich wohl ungefähr dieselben Bilder zu sehen wie Swellengrebel, aber ich zog daraus andere Schlüsse. In guter, kräftiger Anstellhefe — d. i. Hefe, welche dazu bestimmt ist, Bierwürze mitanzustellen — trat mit einer Lösung von 1 Mol. $NH_4Cl$ + Eosin keine Plasmolyse ein. Nur in einem der mikroskopischen Präparate fand ich zwei Zellen, von welchen bei der einen die Kontraktion des Protoplasmas sichtbar war; dies waren jedoch Zellen, welche augenscheinlich schon lange abgestorben waren, und an denen schon deutlich ein Anfang der Verwesung zu sehen war. Ein halbes bis ein Prozent der Hefezellen war rot gefärbt, doch, da diese

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ziffer mit der Anzahl der toten Zellen übereinstimmt, welche man gewöhnlich durch Färben mit verdünnter Methylenblaulösung in der Anstellhefe findet, liegt es auf der Hand, daß nur die toten Zellen rotgefärbt waren. Nach zwei bis vier Stunden war eine größere Anzahl Zellen rotgefärbt, aber von Plasmolyse war keine Spur zu sehen gewesen. In den intensiv rotgefärbten Zellen waren bei durchfallendem Licht keine Vakuolen zu sehen; mit auffallendem Licht dagegen war die Abplattung an verschiedenen Zellen noch deutlich sichtbar. Ich verstärkte die Lösung auf 2 Mol. $NH_4Cl$, erhielt jedoch dasselbe Resultat. Von derselben Hefe wurde ein Teil zentrifugiert und die trockene Hefe 10 Tage lang in einem Becherglas bewahrt, um danach in eine Lösung von 2 Mol. $NH_4Cl$ + Eosin gebracht und untersucht zu werden. Ein anderer Teil der Hefe wurde mit dem Tausendfachen des Volumens an Leitungswasser vermischt und danach 24 Stunden zum Absetzen hingestellt. Das überstehende Wasser wurde abgegossen und ein kleiner Teil der Hefe ebenfalls in 2 Mol. $NH_4Cl$ + Eosin gebracht und untersucht.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren in beiden Fällen dieselben. Viele Zellen wurden schnell rotgefärbt und hier und da wurde eine Zelle gefunden, worin eine Kontraktion des Protoplasmas nicht abzuleugnen war. Ebenso fand ich wirklich, wie Swellengrebel viele Zellen, bei denen das Protoplasma schon eine dunkelrote Farbe angenommen hatte, und die Vakuole noch gar nicht gefärbt war. Die Zellsaftblase hob sich als eine helle Kugel von dem dunkeln Hintergrunde des Protoplasmas ab. Aber als ich durch eine kleine Bewegung des Spiegels die Lichtzufuhr ein wenig abschwächte, verschwand plötzlich die helle Kugel oder Zellsaftblase und an dem Platze, wo die helle Kugel saß, trat ein Teil der Zelle zum Vorschein, welche wohl noch schwächer gefärbt war, als der übrige Teil, worin aber die rote Farbe doch noch deutlich sichtbar war. Wenn man nun so eine helle Kugel durch eine kleine Bewegung an dem Spiegel verschwinden lassen kann, so muß dies doch wohl eine unstoffliche Kugel oder ein Scheinbild gewesen sein. Uebrigens befremdete es mich, daß von Reinkulturen aus gesunder und kräftiger Bierhefe mindestens 99 Proz. der Zellen der osmotischen Wirkung aller hypertonischen Lösungen Widerstand boten. Vielleicht trifft dieses aber nur bei den von mir untersuchten Unter- und Oberhefen zu, und ist es möglicherweise bei anderen Hefesorten anders. Bierhefe ist nämlich an Schwankungen des Konzentrationsgrades der sie umgebenden Flüssigkeit gewöhnt. In Bierwürze gebracht, welche einen Extraktgehalt besitzt von 11—18 Proz. bleibt sie, bis der Extraktgehalt auf 4—6 Proz. zurückgegangen ist; dies dauert ungefähr 8 Tage; dann wird sie herausgeholt und mit großen Mengen Wassers von dem sie umgebenden Bier und Schmutz gereinigt; in diesem Wasser bleibt sie 12—48 Stunden, je nach Umständen und Bedürfnis liegen, um dann wieder in frische Bierwürze gebracht zu werden. Dieser Weg wiederholt sich um die 8—12 Tage und geht — da aus dieser Hefe manchmal eine Zelle gewonnen wird, für die Reinzuchtapparate — regelmäßig jahrein jahraus so fort, so daß es sehr gut möglich ist, daß solche Hefen im Lauf der Zeit ein sehr großes Widerstandsvermögen gegen osmotische Einflüsse erhalten haben.

Vor einigen Jahren wurde eine Methode zur Bereitung von Hefeextrakt patentiert, welche darin bestand, daß man die Hefe gefrieren ließ und dann die gefrorene Hefe plötzlich in heißes Wasser brachte. Hierdurch sollte die Membran platzen und den Zellinhalt in das Wasser

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ausstürzen. Ich machte damals auch diese Proben mit Oberhefe nach und ließ die Hefe in Reagenzröhrchen bis — 12° C gefrieren. Nachdem sie einige Stunden bei dieser Temperatur gestanden hatte, brachte ich sie plötzlich in Wasser von 30° C, indem ich das Reagenzröhrchen in Stücke schlug und die gefrorene Hefe im Wasser verteilte; jedoch ohne ein Resultat zu erzielen. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich keine einzige Hefezelle, deren Membran geplatzt und deren Zellinhalt dadurch frei gekommen war. Einige Röhrchen hielt ich 24 Stunden bei — 8 bis — 9° C und brachte sie danach plötzlich in Wasser von 30° C, jedoch auch wieder mit demselben negativen Resultat.

Ebenso wurde Reinkulturhefe in Bierwürze gebracht, welche 18 Proz. Extrakt enthielt; nach 6 Stunden wurde ein Teil der Würze filtriert und ein wenig der auf dem Filter zurückgebliebenen Hefe in sehr viel destilliertem Wasser verteilt. Dieser plötzliche Uebergang tötete wohl 25—30 Proz. der Zellen — sie färbten sich mit Methylenblau — aber es wurde keine einzige gebarstene Zelle gefunden. Es scheint also ein großer Unterschied zu bestehen in dem Widerstandsvermögen verschiedener Hefesorten, und dieser Unterschied kann sogar bei ein und derselben Hefesorte groß sein, was schon durch frühere Untersuchungen (18) betont wurde.

Eine Hefesorte, welche viele Generationen nacheinander unter weniger günstigen Umständen gelebt und sich vervielfältigt hat, ist viel empfindlicher; sie reagiert viel schneller auf auswendig angebrachte Einflüsse als eine Hefe, welche fortwährend unter günstigen Lebensbedingungen gewesen ist. Nehmen wir z. B. das Verhältnis der Stickstoffverbindungen in der Bierwürze von ein und derselben Hefesorte.

1) Gute Aussaathefe resorbiert unmittelbar nach der Vermischung mit Würze keine Stickstoffverbindungen und erhöht den Stickstoffgehalt der Würze nicht;

2) Minder gute Hefe oder vielleicht unzweckmäßig gewaschene Hefe resorbiert unmittelbar nach der Vermischung mit Würze Stickstoffverbindungen;

3) Schlechte oder abgeschwächte und dadurch viele tote Zellen enthaltende Hefe erhöht den Stickstoffgehalt der Würze.

Der Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz guter Hefe ist 9 bis 10 Proz. und schlechter Hefe 7—8 Proz. Die Anzahl toter Zellen in guter Hefe ist 0,1—1 Proz., in minder guter Hefe 2—5 Proz., in schlechter Hefe 5—60 Proz. Die Vermehrungsfähigkeit und der Vergärungsgrad ist im allgemeinen von guter Hefe größer als von schlechter Hefe.

Gute Hefe verträgt das Waschen mit Wasser sehr gut und kann ohne Gefahr 2—3 Tage im Waschwasser liegen bleiben. Schlechte Hefe dagegen verträgt das Waschen nicht gut; sie verliert viele Stickstoffverbindungen und viele Zellen sterben ab. Sie läßt sich im Waschwasser so wenig aufbewahren, daß sie manchmal nach 2—3 Tagen unbrauchbar geworden ist.

(Schluß folgt.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. Universität zu Tokio.]

Von **K. Saito.**

Mit 5 Tafeln.

(Schluß.)

6) Sporenbildung. In der Kahmhaut oder in der Gelatinestrichkultur findet man Zellen mit Endosporen. Die Sporenbildung vollzieht sich vorzugsweise in doppelkugelförmigen Zellen, und zwar meist in zwei Gliederzellen.

Die Zahl der Endosporen in einer Zelle schwankt zwischen 1 und 4, meistens beträgt sie aber 2. Sie sind ganz kugelig, hyalin, 2,7—6,3 $\mu$ groß und relativ derbwandig. Innerhalb der Sporen finden sich winzige Körnchen eingeschlossen. Die Keimung tritt durch Sprossung hervor.

7) Verhalten gegen Kohlenhydrate. Diese Art vergärt Glukose, Fruktose und Maltose, aber nicht Galaktose, Laktose, Saccharose [1]), Melibiose, Raffinose, Inulin und $\alpha$-Methylglukosid.

8) Affinität der Art. Durch die von Hansen [2]) unternommene Revision der Systematik der Saccharomyceten wurden den sporenbildenden Kahmhefen zwei neuen Gattungen Pichia und Willia zugewiesen. Die letzteren sind in der Beziehung miteinander nahe verwandt, daß sie in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten sofort eine Kahmhaut bilden, welche infolge der Luftbeimischung trocken und matt aussieht. In dieser Hinsicht stimmt unsere Kahmhefe also mit den oben erwähnten Gattungen überein, wenn sie im Soyakojidekokt kultiviert ist. Doch finden sich bei unserer Art einige diagnostische Merkmale, welche sie von den bekannten Gattungen völlig abtrennen lassen. Einen Vergleich der Eigenschaften der ersteren mit denen der letzteren enthält die folgende Tabelle:

| | Pichia | Willia | Unsere Art |
|---|---|---|---|
| Sporen | Halbkugelförmig oder unregelmäßig und eckig | Hut- oder zitronenförmig, mit hervorspringender Leiste versehen | kugelig |
| Mycelbildung | stark | — | ziemlich stark |
| Gärung | nicht vorhanden | Meist kräftige Esterbildner, mit kleinen Ausnahmen | starker Alkoholgärungspilz. |

Unsere Art unterscheidet sich also durch scharf ausgeprägte Merkmale von anderen kahmhautbildenden Gattungen unter den Saccharomyceten, und zwar dadurch, daß die Kahmhaut bei unserer Art nur an den Kulturen im Soyadekokt vollausgebildet zum Vorschein kommt. Unter vorläufigem Verzicht auf eine besondere systematische Benennung will ich sie einstweilen einfach als „Soya-Kahmhefe“ bezeichnen; ob es

1) In den Zellen dieser Hefe läßt sich auch das Vorhandensein des Invertins erkennen.

2) Hansen, E. C., Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Abdruck aus dem Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 19—21. p. 529.)

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich weiterhin empfehlen wird, sie bei einer neuen Gattung unterzubringen, bleibt abzuwarten, wie denn ja auch, bevor wir das Verhalten ähnlicher Formen von der Gruppe I Hansens unter den Soyadekoktkulturen kennen, über die etwaige Neuheit der Species nichts Sicheres auszusagen ist.

Unter solchen Umständen erscheint es aber angezeigt, bei der Beschreibung der Kahmhaut genau die Kulturbedingungen, und zwar die Ernährungszustände, zu beachten.

### d) Mycoderma sp. (Fig. 6 und 8d).

1) Mikroskopisches Aussehen. Mannigfaltige Zellformen: Unregelmäßig polygonal, lang-pastorian, rund, oval u. s. w. Sie sind im allgemeinen kleinzellig. Die Zellen sehen zart aus, oft werden große Sproßverbände im Präparat gesehen. Die Zellen haben gewöhnlich eine große Vakuole, in welcher kleine Körperchen herumschwimmen.

2) Gelatineplattenkultur. Auf der Gelatineplatte kam eine kleine Kolonie zur Entwickelung, die feucht und grauweiß aussieht. Im Zentrum ist sie etwas erhaben. Der Rand ist fein gekerbt, zu ihm gehen feine Riefen. Gelatine wird nicht verflüssigt.

3) Gelatinestrichkultur. An der Strichlinie bildet sie eine grauweiße, feuchtglänzende Auflage. Der Rand ist fein gekerbt. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

4) Riesenkolonie. Die Kolonie auf der Würzegelatine nimmt ein mehlig trockenes Aussehen an, und die ganze Oberfläche kräuselt sich zu einer Unzahl zierlicher Falten. Der Kolonieenrand ist uneben.

5) Kahmhaut. An der Oberfläche des Kojidekoktes entwickelt sich anfangs eine dünne, mattglänzende, weiß getrocknete Kahmhaut, die an einzelnen Stellen breite und unregelmäßig gestaltete Lücken aufweist, welche sich aber später schließen. Dann tritt infolge ungleicher Dicke der Haut ein marmoriertes Bild hervor. Noch später nimmt die Dicke allmählich zu, und zeigt die Decke eine prächtige Faltenbildung. Die Oberfläche wird etwas mehlig bestreut. In Bierwürze geimpft, tritt langsam eine matte Haut auf der Oberfläche hervor.

6) Verhalten gegen Kohlenhydrate. In den von mir untersuchten Kohlenhydraten, Glukose, Fruktose, Galaktose, Mannose, Laktose, Maltose, Saccharose, Melibiose, Raffinose und Inulin kam keine Gasentbindung vor.

### e) Torula sp. (Fig. 7).

Die Zellen sind kugelig und wachsen nicht zu großen Sproßverbänden heran. Die junge Zelle sieht homogen aus; sie ist auch mit Vakuolen versehen. Der schleimige Bodensatz besteht aus derbwandigen Zellen, welche im Innern einen oder mehrere Fetttropfen aufweisen.

Die Zellen sind, auf festem Nährboden erwachsen, zuweilen oval oder langgestreckt. Die Riesenkolonie stellt eine gelblich schleimige Auflagerung dar. In Würze oder Kojidekokt ruft diese Art nur schwache Gasentbindung hervor; zuerst tritt starke Trübung der Flüssigkeit ein, bald darauf die Bildung einer matten Haut. Sie zeigt sich nicht selten in der Maische. Diese Hefe scheint mit der von Wehmer[1]) aus Heringslake isolierten „Salzhefe“ identisch zu sein.

1) Wehmer, C., Zur Bakteriologie und Chemie der Heringslake. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1898. p. 209.)

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

### 3. Bakterien.

a) Bacterium Soya nov. spec. (Fig. 9).

1) Mikroskopisches Aussehen. Kurze, etwas ovale Stäbchen, meist zu zweien oder in kleinen Ketten; an den Polen etwas zugespitzt. Selten in längeren Stäbchen.

2) Eigenbewegung und Geißeln fehlen.

3) Färbbarkeit leicht nach den gewöhnlichen Methoden, auch nach Gram.

4) Anforderungen an Nährböden und Temperatur. Wächst üppig bei Zimmertemperatur und 37° C auf den verschiedenen Nährböden, und zwar üppiger auf zuckerhaltigen Nährböden, als da, wo der Zucker fehlt.

5) Wachstum auf Gelatine- und Agarplatte. α) Aufliegend: Runde, kleine, punktförmige, grauweiße Kolonieen auf der Bouillongelatine. Tiefliegend: Rundliche, diffuse, sich verbreitende Kolonieen, welche bei schwacher Vergrößerung glattränderig, gelblich und feingranuliert aussehen.

β) Die aufliegenden Kolonieen auf der Kojidekoktgelatine sehen etwas erhaben, milchweiß, saftig glänzend und auch rundlich aus. In anderen Beziehungen gleichwie bei Bouillongelatine oder -Agar, aber die Kolonieen üppiger und saftiger wachsend.

6) Gelatine- oder Agarstichkultur. An der ganzen Stichlinie tritt üppiges Wachstum auf, aber ohne Auflagebildung. Keine Verflüssigung der Gelatine tritt ein.

7) Agarstrichkultur. Auf Bouillonagar schleimig, dünn durchscheinende, saftig glänzende Auflage, die etwas bläulich irisiert. Kondenswasser schwach trübe, mit gelbbraunem Bodensatze.

Auf Kojidekoktagar saftig glänzende, milchweiße, üppig erwachsene Auflage. Kondenswasser stark trübe, mit großem Bodensatze.

8) Kartoffelkultur. Porzellanweiße, saftig glänzende Auflage. Wachstum nicht zu üppig, Oberfläche etwas granuliert.

9) Milchkultur. Milch gerinnt nicht, selbst nach einwöchigem Stehen der Kultur.

10) Bouillonkultur. In gewöhnlicher Bouillon tritt keine Trübung und kein Wachstum ein, in dextrosehaltiger zeigt sich aber schon nach 24 Stunden deutliche Trübung.

11) Chemische Leistungen. Diese Art bewirkt auf der Gelatine keine Verflüssigung, dagegen wandelt sie den dargebotenen Zucker in organische Säure um, welche bestimmt werden muß.

In Soyakojidekokt erfolgt nach 24 Stunden schon bedeutende Trübung der Flüssigkeit, welche am nächsten Tage wieder klar wird, und dabei entsteht eine Masse von Bodensatz. Zugleich kommt etwas Gasentbindung in der Kultur vor; das Gas wird durch Kalilauge ganz absorbiert, was den Nachweis von Kohlendioxyd gestattet. Dabei entsteht auch eine Menge Alkohol, welcher im Destillate der Kulturflüssigkeit durch die Jodoformprobe leicht nachgewiesen werden konnte.

Um die Art der organischen Säure zu bestimmen, wurde das Bakterium in gewöhnliches Reiskojidekokt[1]) (10° Balling), welches sorgfältig bereitet und mit Calciumkarbonat versetzt war, geimpft. Bald trat eine deutliche Trübung der Flüssigkeit ein und zeigte sich dabei

1) Hier bediente ich mich des Reiskojidekoktes, weil es eine reichliche Menge Zucker enthielt und die Säurebildung seitens der Bakterien sehr kräftig sein kann.

Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

starke Gasentbindung. Nach dreiwöchiger Kultur wurde die Flüssigkeit abfiltriert und gedämpft, wodurch bei langem Stehen in Zimmertemperatur ein voluminöser Niederschlag entstand. Nach mehrmaligem Waschen des Niederschlages wurde er mittelst verdünnter Schwefelsäure zersetzt, worauf Milchsäure durch Aether ausgeschieden wurde. Aus dem Aetherextrakte wurde die Milchsäure mit Zinkkarbonat in Zinksalz übergeführt und nach Stehen im Exsikkator als Zinklaktat in krystallischer Form ausgeschieden. Die Krystallform, Löslichkeitsverhältnisse, Eisenchloridreaktion und Uffelmannsche Reaktion haben die Milchsäure sichergestellt.

Dieses Bakterium ist also nichts anderes als eine Art der Milchsäurebakterien. Es ist jedoch keineswegs ausgeschlossen, daß auch noch Spuren anderer Säurearten bei der Gärung entstanden sind.

Um die Energie der Milchsäurebildung zu messen, habe ich Erlenmeyersche Kölbchen, 50 ccm Reiskojidekokt (10° Balling) enthaltend, mit diesem Mikroorganismus geimpft und die Acidität alle Tage mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge titriert (Lackmus als Indikator); dabei entspricht 1 ccm $^1/_{10}$ NaOH 0,009 g Milchsäure. Folgende Tabelle zeigt das Resultat:

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Original-Kulturflüssigkeit | 10,0 | ccm entspricht | 0,2 | ccm | $^1/_{10}$ | NaOH | = 0,002 | g Milchsäure |
| Nach 1 Tage (bei 30° C) | 10,0 | „ „ | 1,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,009 | „ „ |
| „ 2 Tagen | 10,0 | „ „ | 3,1 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,028 | „ „ |
| „ 3 „ | 10,0 | „ „ | 4,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,036 | „ „ |
| „ 4 „ | 10,0 | „ „ | 4,4 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,040 | „ „ |
| „ 5 „ | 10,0 | „ „ | 4,6 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,041 | „ „ |
| „ 6 „ | 10,0 | „ „ | 4,7 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,042 | „ „ |
| „ 7 „ | 10,0 | „ „ | 4,9 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,044 | „ „ |
| „ 8 „ | 10,0 | „ „ | 4,9 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,044 | „ „ |
| „ 9 „ | 10,0 | „ „ | 4,9 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,044 | „ „ |
| „ 10 „ | 10,0 | „ „ | 4,9 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,044 | „ „ |

Da bei dem Versuch mit 10 ccm operiert wurde, müßten diese Zahlen mit 10 multipliziert werden, um die prozentischen Werte zu erhalten.

b) Sarcina Hamaguchiae nov. spec.[1]) (Tafel 5 Fig. 10).

1) Mikroskopisches Aussehen. Auf den verschiedenen Nährböden, besonders bei der Kultur in Salzkojidekokt, werden ziemlich große und regelmäßige Paketballen gefunden. Häufig sieht man einzelne oder zu 2 oder 4 beisammenliegende Kokken.

2) Eigenbewegung und Geißeln fehlen.

3) Färbbarkeit. Leicht färbbar nach den gewöhnlichen Methoden — auch gut nach Gram.

4) Anforderungen an Nährböden und Temperatur. Wächst schnell, schon bei Zimmertemperatur, und sehr gut bei 37° C, nimmt mit zuckerhaltigen Nährböden vorlieb; noch schwächer wächst sie, wenn der Zucker fehlt.

5) Wachstum auf Gelatine- und Agarplatte. α) Aufliegend: Auf Bouillongelatine oder -Agar bildet sich eine runde, punktförmige Kolonie aus. Tiefliegend: Rundlich, hellgranuliert und glattränderig.

β) Die aufliegenden Kolonieen auf Kojidekoktgelatine oder -Agar

1) Die Speciesbezeichnung wählte ich zu Ehren des Braumeisters, Herrn Hamaguchi.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind wie beim Bacterium Soya etwas erhaben, milchweiß, saftig glänzend und rund. Das Wachstum ist in der Regel üppiger als auf dem Nährboden mit Bouillon.

6) Gelatine- oder Agarstichkultur. An der ganzen Stichlinie zeigt sich üppiges Wachstum, doch ohne Auflagebildung. Verflüssigung von Gelatine tritt nicht ein.

7) Agarstrichkultur: α) Bouillonagar: Ziemlich ausgebreitete, dünn durchscheinende, saftig glänzende Auflage, glattränderig. Irisiert etwas bläulich. Kondenswasser schwach trübe, mit gelbbraunem Bodensatz.

β) Kojidekoktagar: Auf dem Agar entsteht eine milchweiße, saftig glänzende Auflage. Kondenswasser getrübt, mit starkem Bodensatz.

8) Kartoffelkultur: Auf gewöhnlichen Kartoffeln hört das Wachstum bald vollständig auf, eine sichtbare Entwickelung zu zeigen.

9) Milchkultur: Milch wird nicht koaguliert.

10) Bouillonkultur: In gewöhnlicher Nährbouillon bleibt das Wachstum sogar aus und tritt keine Trübung der Flüssigkeit ein. Im Gegensatz dazu wächst die Art in dextrosehaltiger Flüssigkeit, welche sich allmählich trübt. Dabei erfolgt jedoch keine Gasentbindung.

Das Wachstum im Kojidekokt ist üppiger als dasjenige in der Bouillon, auch ohne Gasproduktion.

11) Chemische Leistungen: Diese Art produziert in zuckerhaltiger Nährlösung auch Milchsäure. Die Produktion der letzteren habe ich in gleicher Weise gemessen, wie bei dem Bacterium Soya. Das Resultat ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nach | 1 | Tg. (30° C) | Kulturfl. | 10,0 | ccm | entspr. | 0,8 | ccm | $^1/_{10}$ | NaOH | = 0,007 | g | Milchsäure |
| „ | 2 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 4,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,036 | „ | „ |
| „ | 3 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 5,3 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,048 | „ | „ |
| „ | 4 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 6,7 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,060 | „ | „ |
| „ | 5 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 7,7 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,069 | „ | „ |
| „ | 6 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 8,7 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,078 | „ | „ |
| „ | 7 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 9,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,081 | „ | „ |
| „ | 8 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 9,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,081 | „ | „ |
| „ | 9 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 9,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,081 | „ | „ |
| „ | 10 | „ | „ | 10,0 | „ | „ | 9,0 | „ | $^1/_{10}$ | „ | = 0,081 | „ | „ |

Ob bei Umwandlung des Zuckers andere organische Säuren gebildet sein könnten, lasse ich vorläufig unbestimmt.

## c) Andere Bakterienarten.

Es ist eine bemerkenswerte Tatsache, daß die Keime der Bakterien, welche sehr gemein in unserer Umgebung vorkommen, enorm reich in der Maische vorhanden sind. Zum Nachweis derselben bediente ich mich des gewöhnlichen Plattenverfahrens mit Bouillonpeptonagar. Von den Maischematerialien, die auf verschiedenen Reifestufen stehen, gehen immer in riesiger Zahl Kolonieen von Bacillus subtilis und Bac. mesentericus vulgatus auf. Doch wurde niemals eine sporenlose Art gefunden, selbst von Maische in jüngeren Reifestadien, während im Koji, welches auch mikrobiologisch analysiert wurde, Sarcina sp., Micrococcus aurantiacus und Termobacterium sp. häufig auftraten. Diese Tatsache ist vielleicht auf die starke Widerstandsfähigkeit der endogenen Sporen gegenüber konzentrierter Kochsalzlösung, welche alle am Koji anhaftenden vegetativen Zellen zu töten vermag, zurückzuführen. Dadurch ist aber nicht die Annahme gerechtfertigt, daß die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oben genannten sporenbildenden Arten auf den Gang des Maischprozesses irgend eine Wirkung ausüben können, denn in Kojidekokt mit 17-proz. Kochsalz sich zu entwickeln, war keine derselben im stande.

## IV. Zusammenfassung.

Wie ich oben dargetan habe, spielen die verschiedenen Mikroorganismen bei der Soyabereitung je ihre eigene Rolle, durch deren Zusammenwirkung das eigentümliche Mittel hergestellt wird. Von den fundamentalen Abänderungen der Rohmaterialien sind die Verzuckerung der Stärke, Zersetzung des Eiweißstoffes, Säureproduktion (Milchsäuregärung) und die Alkoholbildung durch meine eigenen Untersuchungen auf festen Boden gestellt. Auch die Ansicht Nishimuras, welcher die Anwesenheit von Bakterien in der Soyamaische leugnet, muß durch unsere Versuche als experimentell widerlegt gelten, denn die von mir isolierten zwei Bakterienarten können auch eine hochkonzentrierte Kochsalzlösung vertragen.

Es ist noch nicht festgestellt worden, ob das eigentliche Aroma des Soya mit der Alkoholbildung in irgendwelcher Beziehung steht. Auch die Ermittelungen über eine etwaige Anwendbarkeit der von mir isolierten, bei der Gärung wesentlich einwirkenden Mikroorganismen zur Beschleunigung der Maischenreifung und Verbesserung der Handelsartikel sind noch nicht abgeschlossen.

Zum Schluß dürfte es zweckmäßig sein, die wesentlichen Resultate meiner Untersuchungen hier kurz zusammenzufassen:

1) Bei der Verzuckerung der Stärke und der Zerspaltung des Eiweißstoffes in den Rohmaterialien, Soyabohnen und Weizen, spielt der allgemein bekannte Aspergillus Oryzae eine unentbehrlich wichtige Rolle. Von den Enzymen, welche dieser Schimmelpilz ausscheidet, bleiben die Diastase und Invertase auch beim Zusatz von 20-proz. Kochsalz noch in Tätigkeit.

2) Von den verwerflichen Schimmelpilzen kommen zwei Phykomycetenarten, Rhizopus japonicus var. angulosporus und Tieghemella hyalospora, im Koji vor.

3) Unter den Hefen, welche in dem Moromi (Maische) vorkommen, fand ich als die eigentümliche Alkoholbildnerin bei dem Gärprozeß eine neue Art, Saccharomyces Soya. Es ist eine merkwürdige Tatsache, daß diese Art niemals Saccharose vergärt, während sie in ihrem Zellenleibe Invertase ausgebildet hat.

4) Interessant ist es in biologischer Hinsicht, daß die Plasmolyse der Zellen des Saccharomyces Soya in 20-proz. Kochsalzlösung schnell ausgeglichen wird.

5) Aus der Kahmhaut, welche auf der vergärten Flüssigkeit sich entwickelt, war ich im stande, drei Sproßpilze, Saccharomyces farinosus, Mycoderma sp. und Soya-Kahmhefe, zu isolieren.

6) Im Moromi kommen zwei neue Bakterienarten, Bacterium Soya und Sarcina Hamaguchiae, vor, welche sich in 17-proz. Salzlösung wohl entwickeln können. Beide sind nichts anderes als Milchsäurebakterien.

## Anhang.

Nachdem ich die vorhergehenden Untersuchungen beendet hatte, gelang es mir durch die Freundlichkeit des Herrn Torii, welchem ich meinen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besten Dank schuldig bin, ein großes Stück des Bohnenkuchens zu erhalten, welcher in der Provinz Owari zum Zweck der Zubereitung eines Salzungsmittels, Tamari, verwendet wird. Das Tamari wird auch in einigen Lokalitäten Japans in mäßiger Menge hergestellt und ähnelt in der Qualität der Soya, doch steht das erstere im Geschmack und Aroma dem letzteren nach.

Zum Bereiten des Tamari werden Soyabohnen verwendet, welche nach Kochen in passender Stückform zusammengehängt und mit Hilfe eines eigenen Schimmelpilzes in Koji umgewandelt werden. Auf der ganzen Oberfläche des Koji wachsen dunkelschwarze Phykomycetenmycelien hervor. Zuweilen treten aber gelbe Flecken auf, welche in gutem Koji wenig oder gar nicht vorhanden sein sollen. Danach wird das Koji mit Kochsalz und Wasser innig vermischt und die auf diese Weise hergestellte Maische reift in 12 Monaten allmählich aus.

Bei der in üblicher Weise unternommenen mikrobiologischen Analyse wurden die folgenden Schimmelpilze aus dem mir zugestellten Kuchen (Koji) isoliert, während kein Keim des Aspergillus Oryzae vorhanden war, welcher zum Herstellen des Soyakoji stets unentbehrlich ist. Hierbei haben wir uns auf die Schimmelpilzkeime im Koji zu beschränken, da Maischenexemplare noch nicht von mir untersucht sind.

### 1. Rhizopus Tamari nov. spec.

Diese Art bildet den Hauptbestandteil der Schimmelpilzflora im Koji, und steht der Rhizopus-Art, welche im Soyakoji zuweilen vorkommt, sehr nahe. Beide sind morphologisch schwer zu unterscheiden und geben einen kräftigen Wald von Sporangienträgern mit dunkelgefärbten Sporangien[1]). In physiologischer Hinsicht bietet aber das Verhalten gegen Kohlenhydrate ein sicheres Unterscheidungsmittel der beiden Arten. Die folgende Tabelle stellt das Verhalten von beiden Rhizopus-Arten gegen verschiedene Zuckerarten dar (— bedeutet, daß keine Gärung, + daß dieselbe auftrat):

| Bezeichnung der Zuckerarten | Rhizopus aus Soyakoji | Rhizopus aus Tamarikoji |
|---|---|---|
| Glukose | + | + |
| Fruktose | + | + |
| Galaktose | + | + |
| Melibiose | + | — |
| Maltose | + | + |
| Laktose | — | — |
| Saccharose | + | + |
| Raffinose | + | + |
| Inulin | + | — |

Wie man aus dieser Tabelle sieht, kann die Rhizopus-Art aus Tamarikoji Inulin und Melibiose nicht vergären, dagegen tut es diejenige aus Soyakoji. Beide Arten vermögen aber keine Laktose zu vergären. Ich schlage also für den ersteren den Namen Rhizopus Tamari vor.

1) Die von mir gemessenen Dimensionen sind: Rasenhöhe 5 cm, Sporangienträger 400 μ hoch, Sporangiendurchmesser 48—144 μ, Columella 48—120 μ hoch und 36—112 μ breit, Sporen 6—8 μ (rund), (6—12) × (4—8) μ (oval), Gemmen 20—30 μ.

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## 2. Aspergillus glaucus Link.

Die mikroskopische Prüfung zeigt uns, daß die gelben, auf der Kojioberfläche vorkommenden Flecken nichts anderes als Aggregationen der Perithecien von einer Askomycetenart ist. Durch den kulturellen Versuch ergab sich, daß die letztere Art kein anderer als der gemein verbreitete Aspergillus glaucus Link ist, welcher zu allgemein bekannt ist, als daß hier näher auf denselben einzugehen wäre. Doch bleibt die Frage offen, warum das Vorkommen dieser Art auf der Kojifläche praktisch mißbilligt wird.

## 3. Aspergillus Rehmii Zukal (?).

Konidienrasen beständig schwefelgelb. Konidienträger niedrig, wenig ansehnlich, gerade[1]). Die ockergelbe Wand des Stiels mit größeren oder kleineren, gelblichbraunen Warzen besetzt, die nicht eine Ausscheidung, sondern lokale Membranverdickungen sind[2]). Blase in der Regel länglich-oval, glatt, farblos, Sterigmen stets verzweigt, schlank, primäre keulig, sekundäre zart, in 4-Zahl, scharf zugespitzt. Konidien rund, jüngere ellipsoidisch und kleiner, glatt, gelblich. Sklerotien kleinkugelig und bräunlich, Auskeimung oder Ascusbildung kommt nicht vor. Perithecien nicht gefunden.

Größenverhältnisse[3]): Träger 800 $\mu$ — 1,0 mm $\times$ 6 — 8 $\mu$, Blase 32 $\times$ 28 $\mu$, Sterigmen 12 $\times$ 6 $\mu$ (primäre), 9 $\times$ 2 $\mu$ (sekundäre), Konidien 2,5—3,5 $\mu$, Hyphen 2—4 $\mu$ breit, Sklerotiendurchmesser 750 $\mu$ — 1,0 mm.

Wächst gut auf Reis und Gelatine, aber sehr kümmerlich auf Dekokten von Eichenrinde. Verflüssigung der Stärke und Gelatine sehr träg. Optimale Temperatur für Wachstum bei ca. 25° C, bei 37° C die Entwickelung sehr träge fortschreitend.

Die Keime dieses Pilzes sind im Tamarikoji nur spärlich vorhanden. In wesentlichen morphologischen Eigenschaften stimmt unsere Art mit Aspergillus Rehmii Zukal[4]) überein, doch finden wir in der Diagnose der letzteren Art keine Angabe über das Vorkommen der Warzen an den Konidienträgern, während sie bei unserer Art sehr deutlich erscheinen. Dieses wichtige Merkmal ist vielleicht vom Entdecker des Aspergillus Rehmii vernachlässigt worden. Zukal fand auch Perithecien, welche von mir niemals gefunden wurden. Statt derselben tritt in unserem Falle eine enorm reiche Sklerotienbildung auf.

## 4. Circinella mucoroides nov. spec.

Rasen locker, schwarzgrau. Sporangienträger schlaff aufrecht, dicht, entweder in eine sterile Spitze auslaufend oder mit einem Endosporangium abschließend, mit zwei Reihen alternierender, nickender Sporangien auf kurzen Seitenästen, die selbst wieder ein kurzes, nach aufwärts gerichtetes, dornähnliches, gewöhnlich unverzweigtes Aestchen

1) Selten kommen gabelig oder verschieden unregelmäßig verzweigte Konidienträger vor.

2) Diese Warzen sind in Wasser, Alkohol, Aether und Schwefelsäure ganz unlöslich.

3) Hier angegebene Dimensionen beziehen sich auf die Kultur in gekochtem Reis, wo die Entwickelung des Pilzes sehr üppig vor sich geht.

4) Wehmer, C., Die Pilzgattung Aspergillus etc. 1901. p. 115.

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

tragen; weiter aufwärts die Sporangienstiele dornlos[1]), mit gebräunter, cuticularischer und inkrustierter Membran; Inhalt farblos; Sympodiumachse des Sporangienträgers ohne Querwände, die Sporangienstiele und ihre Dornen meist abgegrenzt durch Querwände. Sporangien klein, kugelig, nickend, bräunlich, feinstachelig. Sporangienwand nicht zerfließend, im Aequator zerreißend und die untere Hälfte als Basalkragen zurücklassend, inkrustiert, bräunlich. Columella schmal aufsitzend, cylindrisch abgerundet oder in der Oberfläche aufgebuchtet, mit schwach bräunlicher, glatter Membran und farblosem Inhalt. Sporen kugelrund, einzeln hellgraulich, gehäuft bräunlichgrau. Zygosporen und Gemmen nicht gefunden.

Größenverhältnisse: Rasenhöhe (Gelatinekultur) 4 cm, Sporangienträger sehr lang und variabel, Sporangiendurchmesser 60—68 $\mu$, Columella (28—48) $\mu \times$ (24—40) $\mu$, Sporen 7—8 $\mu$ im Durchmesser.

Diese Art wächst bei etwa 25° C sehr üppig, aber nur kümmerlich bei 37° C. Sie kann sich auf gekochtem Reis und Gelatine sehr kräftig entwickeln; dabei kommt eine Verzuckerung der Stärke nur spärlich vor, auch bleibt die Gelatine lange unverflüssigt.

Affinität: Nach den oben erwähnten Eigenschaften steht dieser Pilz in nächster Verwandtschaft mit Circinella spinosa Van Tieghem et Le Monnier. Die letztere Art hat spiralig oder schneckenförmig eingerollte Seitenäste, welche bei unserer Art nur bischofstabförmig eingekrümmt sind. Circinella spinosa bildet nach Bainier nur ausnahmsweise den Sporangienträger mit Endosporangium, aber bei unserer Art wird die Endosporangienbildung nicht selten beobachtet. Endlich sind die Sporen bei unserer Art größer als bei C. spinosa. Sonst wie C. spinosa.

Die Keime dieser Art sind im Koji reichlich vorhanden.

## Tafelerklärung.

### Tafel I.

Fig. 1. Rhizopus japonicus var. angulosporus (Reiskultur).
1) Rasen in Lupenvergrößerung.
2) Sporangienträger ($\times$ 52).
3) Sporangienträger mit Anschwellungen ($\times$ 52).
4) Columella ($\times$ 125).
5) Sporen ($\times$ 400).
6) Gemmen ($\times$ 400).
7) Ein Teil der Sporangienwand mit Kristallnadeln ($\times$ 560).

### Tafel II.

Fig. 2. Saccharomyces farinosus (Agarkultur) ($\times$ 900).

Fig. 3 (a—c). Soyakahmhefe (Hautzellen auf Soyakojidekokt) ($\times$ 900). a) Normal kugelig. b) Mycelähnliche Zellen. c) Zellen mit Sporen.

### Tafel III.

Fig. 4 (a—b). Saccharomyces Soya (Kultur in Soyakojidekokt). a) 48 Stunden alte Zellen. b) Zellen mit Sporen (aus Hefering).

Fig. 6. Mycoderma sp. ($\times$ 900).

Fig. 7. Torula sp. ($\times$ 900).

---

1) Wie die übrigen Mucorineenarten, zeigen auch oft die Sporangienträger mancherlei Abweichungen von dem normalen Bau. Gelegentlich wächst der Dornfortsatz der Sporangienstiele zu einem zweiten Sporangium aus oder verzweigt sich abermals, je mit einem Sporangium abschließend. Dagegen unterbleibt an manchem oberen Sporangienstiele die Sporangienbildung ganz und der Dornfortsatz ist manchmal an der Spitze zu zwei bis vier kleinen Aestchen verzweigt. Auch, obwohl selten, begegnet man der Verzweigung des Hauptstiels.

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tafel IV.

Fig. 5. Tieghemella hyalospora (Reiskultur).
1) Rasen in Lupenvergrößerung.
2) Rhizoiden (× 400).
3) Sporangienträger (× 125).
4) Sporangien (× 400).
5) Columella (× 400).
6) Sporen (× 560).
7) Gemmen (× 125).
(Fig. 6 u. 7 siehe Tafel III.)

Tafel V.

Fig. 8 (a—c). Riesenkolonieen (3 Wochen alt).
a) Saccharomyces Soya.
b) Soyakahmhefe.
c) Saccharomyces farinosus.
d) Mycoderma sp.
Fig. 9. Bacterium Soya (× 900).
Fig. 10. Sarcina Hamaguchiae (× 900).

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden.

## Ein Beitrag zur Methodik der mikrobiologischen Bodenforschung.

Von **Harald R. Christensen,** Kopenhagen.

Mit 4 Figuren im Text.

(Fortsetzung.)

Gerlach und Vogel haben bei ihrer erwähnten Untersuchung nachgewiesen, daß außer Kalk auch Phosphorsäure für die Entwickelung des Azotobacter absolut notwendig ist, während Kali keinen notwendigen Nährstoff für diese Bakterien bildet, aber doch auf ihr Wachstum und ihre Stickstoffassimilation ziemlich fördernd einwirkt.

Ebenso wie ich bei Versuch a untersucht habe, wie die verschiedenen Böden sich bei Ueberimpfung in eine Nährflüssigkeit ohne Kalk verhielten, suchte ich jetzt das Verhalten gegenüber einer Flüssigkeit zu konstatieren, welche an mineralischen Nährstoffen nur kohlensauren Kalk (2 g pro Liter), aber kein Kaliphosphat enthielt. Zum Vergleich wurden die einzelnen Erden in eine Flüssigkeit, welche alle drei mineralischen Nährstoffe enthielt, übergeimpft. Die Anstellung des Versuches war im übrigen wie bei Versuch b, und sämtliche Kolben wurden ebenfalls mit Azotobacter-Rohkultur geimpft. Es wurden hier wie überall wenigstens zwei Gemeinkolben benutzt, deren Resultate stets gut übereinstimmten.

Das Ergebnis der Untersuchung ist aus Tabelle IV ersichtlich.

Ebenso wie wir bei den Versuchen a und b die Azotobacter-Vegetation in Bezug auf Anwesenheit von Kalk reagieren sahen, finden wir hier, daß sie, wenngleich in etwas weniger ausgesprochenem Grade, gegenüber dem Gehalt des Substrates an Phosphorsäure und Kali reagiert.

Was zunächst das Impfmaterial aus dem auf dem Lehmboden Askov ausgeführten Düngungsversuch betrifft, so stellt sich heraus, daß erst durch Impfung mit Erde aus den am stärksten gedüngten Parzellen (20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat und 30000 Pfd. Stalldünger)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter- | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mannit + $CaCO_3$ | | | | | | |
| | | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| | **A. a) Düngungsversuch auf Lehmboden Askov** | | | | | | | |
| 1 | 20000 Pfd. Stalldünger | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | Superphosphat | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Kainit | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | Chilisalpeter | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | Ungedüngt | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | 0 | 0—(+) | 0—(+) | (+) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++ |
| 8 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat + Kalk | 0 | 0—(+) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++ |
| 9 | 30000 Pfd. Stalldünger | 0 | 0 | 0—(+) | 0—(+) | 0—(+) | (+) | (+) |
| 10 | 30000 Pfd. Stalldünger + Kalk | 0 | 0 | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++) | (+)—(++ |
| | **A. b) Düngungsversuch auf Sandboden Askov** | | | | | | | |
| 11 | 20000 Pfd. Stalldünger | 0 | 0—(+) | (+) | (+)—(++) | (+)—(++) | (++) | (++) |
| 12 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | 0 | (+) | (+)—(++) | (++) | (++) | (++) | (++) |
| 13 | Superphosphat | 0 | (+) | (+)—(++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| 14 | Kainit | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | Chilisalpeter | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | Ungedüngt | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | 0 | (+) | (+)—(++) | (++) | (+++) | (+++) | (+++ |
| 18 | 30000 Pfd. Stalldünger | 0 | (++) | (++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| | C. Frammerslev | | | | | | | |
| 21 | Lehmboden (Brache) | 0 | (++) | (++) | (++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| 22 | Lehmboden (überrieselt mit Mistwasser) | 0 | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++ |
| 23 | Urbar gemachtes Heideland | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | D. Waldboden. | | | | | | | |
| 30 | Waldboden aus Rungsted | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | E. Verschiedene Böden | | | | | | | |
| 31 | Lehmboden aus Lyngby | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | Lehmboden aus dem Garten der Landwirtsch. Hochschule | 0 | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (++++) | (+++ |
| 33 | Lehmboden aus dem Unterrichtsfeld der Landwirtsch. Hochschule | 0 | (+++) | (+++) | (++++) | (++++) | (++++) | (+++ |
| 34 | Lehmboden aus Aarslev | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 35 | Lehmboden aus Wium Mölle | 0 | (++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++ |
| 39 | Lehmboden aus Eielstrup | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 40 | Sandboden aus Westjütland | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 41 | Lehmboden aus Möen | 0 | (++) | (+++) | (+++) | (++++) | (++++) | (++++ |

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Versuch d.**

| Vegetation | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vergärung des Mannits | Mannit + $CaCO_3$ + $K_2HPO_4$ | | | | | | | Vergärung des Mannits |
| | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage | |
| stark | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | sehr stark |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| sehr schwach | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| keine | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| sehr schwach | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| stark | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| sehr stark | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| stark | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |
| " | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | " |



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine Azotobacter-Vegetation hervorkommt. Die Vegetation ist jedoch hier ziemlich schwach; der Unterschied zwischen diesen stark gedüngten Böden und den übrigen ist aber doch ein sehr deutlicher.

Die Untersuchung über das Verhalten dieser Böden gegenüber der Mannitlösung hat übrigens noch ein weiteres interessantes Verhältnis zu Tage gefördert. Die zehnte Kolonne der Tabelle gibt Notizen über den Grad der Mannitvergärung in der Flüssigkeit, welche außer Mannit nur noch kohlensauren Kalk enthält, und aus diesen erhellt, daß Erde aus den nichtgedüngten Parzellen und aus den Kainitparzellen nur eine sehr schwache Mannitvergärung hat hervorrufen können, und daß durch Impfung mit Erde aus den Chilisalpeterparzellen überhaupt keine Gärung in dem Mannit erregt wurde (siehe Fig. 3). Die Flüssigkeit hat hier ein ganz steriles Aussehen und ist ganz geruchlos. Bei Impfung mit den übrigen Erdproben tritt eine besonders kräftige Gärung ein, welche sich durch eine starke Schaumbildung (Fig. 4), sowie durch starken aromatischen Geruch zu erkennen gibt. Daß diese Unterschiede auf einen verschiedenen Gehalt an Phosphorsäure oder Kali oder vielleicht beide zurückzuführen sind, ist daraus ersichtlich, daß Zugabe von Kaliphosphat in allen Fällen eine sehr starke Gärung hervorruft (siehe die letzte Kolonne der Tabelle). Ich werde später auf eine nähere Besprechung dieses Verhältnisses zurückkommen.

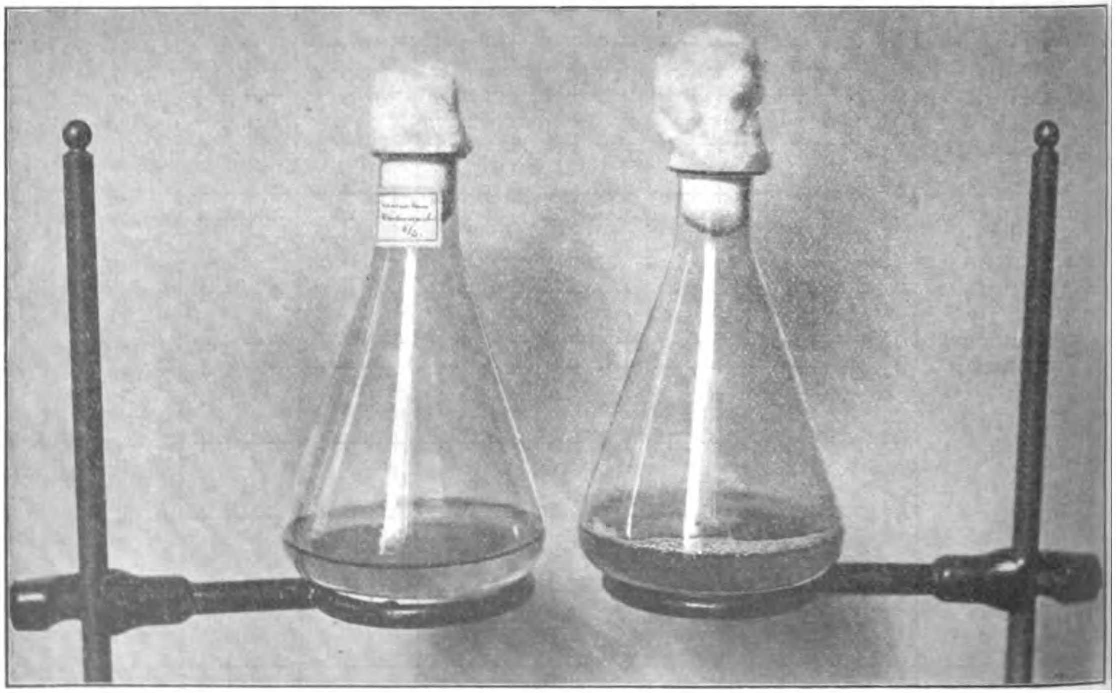


Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 3 und 4. Nährflüssigkeit: Mannit + ClK + $CaCO_3$. Kolben 3 geimpft mit Boden No. 5 (mit Chilisalpeter gedüngt). Keine Mannitvergärung. Kolben 4 geimpft mit Boden No. 3 (mit Superphosphat gedüngt). Starke Mannitvergärung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei dem Düngungsversuch auf dem Sandboden Askov tritt der Unterschied in der Entwickelung der Azotobacter-Vegetation deutlicher hervor und kann letztere in den am stärksten gedüngten Bodenstücken sowie in dem ausschließlich mit Superphosphat gedüngten Stücke sogar als kräftig bezeichnet werden. Daß durch Impfung mit ausschließlich mit Superphosphat gedüngter Erde die Vegetation kräftiger wird, als wenn der Boden allseitige Kunstdüngung (Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter) oder Stalldüngung (No. 11) erhalten hat, dürfte wohl zunächst darin seine Erklärung finden, daß die Phosphorsäure eine besondere Rolle für die Entwickelung von Azotobacter spielt und ferner auch darin, daß die Pflanzenproduktion im Laufe der Jahre den allseitig gedüngten Parzellen eine größere Menge Pflanzennahrung entzogen hat als den Superphosphatparzellen, wo der Mangel an Kali und Stickstoff dem Umfange der Pflanzenproduktion ziemlich enge Schranken setzt. Die ausgesprochenen Unterschiede in der Mannitvergärung, wie wir sie bei dem Versuch auf dem Lehmboden vorfanden, treffen wir auf dem Sandboden nicht wieder[1]; hier wird vielmehr eine kräftige Vergärung des Mannits sowohl durch Erde aus den nichtgedüngten Parzellen als durch solche aus den Kainit- und den Chilisalpeterparzellen hervorgerufen.

Aus der Tabelle erhellt des weiteren, daß die verschiedenen anderen zur Untersuchung gelangten Böden sich gegenüber Abwesenheit von Kaliphosphat in der Nährflüssigkeit sehr verschieden verhalten. Während die Böden No. 21 (Bracherde aus Frammerslev), 22 (guter Lehmboden, überrieselt mit Mistwasser), 32 (guter Lehmboden aus dem Garten der Landwirtschaftlichen Hochschule), 33 (guter Lehmboden aus dem Unterrichtsfeld der Landwirtschaftlichen Hochschule), 35 (guter Lehmboden aus Wium Mölle) und 41 (guter Lehmboden aus Möen), welche sämtlich sehr düngungskräftig sind, ohne Vorhandensein von Kaliphosphat in der Nährflüssigkeit eine kräftige bis sehr kräftige Azotobacter-Vegetation erzeugen, sind dagegen die übrigen mehr oder minder mageren Böden nicht im stande, eine solche hervorzubringen.

Es war nun von Wichtigkeit, zu ermitteln, welche Rolle jeder einzelne von den im Kaliphosphat enthaltenen Nährstoffen für die Entwickelung der Azotobacter-Vegetation spielt. Zur Beleuchtung dieser Frage wurde eine neue Reihe Versuche angestellt.

Es gelangten bei diesen folgende Nährflüssigkeiten zur Verwendung:

1) Mannit + $CaCO_3$,
2) Mannit + $CaCO_3$ + $CaHPO_4$ (1 g pro Liter),
3) Mannit + $CaCO_3$ + KCl (0,3 g pro Liter),
4) Mannit + $CaCO_3$ + $CaHPO_4$ + KCl.

(Schluß folgt.)

1) Dieses dürfte wohl mit dem Umstande in Zusammenhang stehen, daß das betreffende Areal vor dessen Anwendung als Versuchsfeld mehrere Jahre hindurch sehr stark mit Superphosphat und Knochenmehl gedüngt wurde. Düngungsversuche auf dem Askover Sandboden haben denn auch ergeben, daß dieser einem Zuschuß von Phosphorsäure gegenüber nur sehr schwach oder gar nicht reagiert.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.

By **F. C. Harrison,**
Bacteriological Laboratories, The MacDonald College, Ste Anne de Bellevue, P. Q., Canada.

With 8 Plates from photographs and 1 table.

(Continuation.)

Stains. The organism stained readily with the usual aniline colors. Carbol fuchsin and gentian violet gave good results. Gram's method was negative, but if amyl alcohol was used for decolorising the bacillus was deeply stained. Sections of diseased tissues showing the organism in situ were difficult to stain, as the tissues would take the stains as readily as the bacteria, and when decolorising agents were applied the bacteria were the first to lose their color. Even slight washing in alcohol sufficed to remove the greater part of the dye from the bacterial cells, and thus good preparations for photographing were difficult to secure.

The best results were obtained by a modified form of Gram's method, using amyl or propyl alcohol for decolorising and by staining the sections on the slide, washing thoroughly with water, and then allowing them to dry out, subsequently clearing in xylol and mounting in Canada balsam dissolved in xylol.

## Cultural characters on various media.

The media used, unless otherwise stated, was prepared according to the recommendations of the Laboratory Committee of the American Public Health Association. Distilled water, lean beef and Witte's peptone were employed. The reaction of the media was determined by titration with phenolphthalein as indicator.

Gelatine plates. Beef peptone gelatine 1,5 per cent. at 20° C. At the end of 24 hours the colonies were not visible to the eye, but viewed at a magnification of 94 diameters appeared circular, hyaline, with entire edges and from 7 to 8 $\mu$ in diameter.

Surface colonies. In 48 hours colonies were punctiform to the naked eye. Viewed under the microscope, they averaged 0,25 mm in diameter; flat. roughly circular, with erose to lobate edges, marmorated, and somewhat resembled colonies of B. coli. They were of a faint brown color by reflected, and bluish white by transmitted light. At the end of three days the colonies were 1 mm. in diameter, slightly less marmorated, otherwise they resembled their appearance at 48 hours. In 4 days colonies averaked 1,5 mm in diameter. Structure of the colony more gyrose and showed more contour of surface. The centre of the colony was brownish, the margin hyaline, and the edges undulate. At the end of 5 days the appearance was the same but the colonies were slightly larger and no further change save, perhaps, in size, was noticeable. (12 days under observation.)

Deep colonies. At the end of 48 hours the deep colonies were smaller than the surface ones. They averaged 60—70 $\mu$ in diameter. Most of them were circular, but some were slightly elliptical or egg-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

shaped. They were slightly granular but hyaline. In 3 days colonies were larger, 0,25 mm in diameter, and granular. In 4 days a number of the deep colonies showed a light ring about 40 $\mu$ from the edge of the colony. This ring was more marked in colonies 5 days old. No further changes occurred.

Gelatine stich Cultures. In 24 hours at 20° C. there was growth along the entire line of puncture, filiform. The surface growth was flat and non-spreading. In 3 days the growth was slightly heavier. The surface growth was about 1,5 mm in diameter. In 8 days there was a slight depression of the gelatine at the surface and this increased very slowly. In cultures 25 days old the depression was about 2 mm. in depth and 5 to 6 mm. in diameter. Liquefaction began to be noticeable about the thirty-fifth day. In forty-four days the liquefied portion was about 7 mm deep with the deposited growth at the bottom. The growth was whitish in color.

Gelatine streak at 20° C. In 24 hours on sloped gelatine, the surface of which was streaked with one loopful of a twentyfour-hour-old bouillon cultures, there was a thin, bluish white, non-spreading band of growth, white by reflected light and faint brown when the tube was held up between the eye and the light. In two days the growth was slightly heavier, non-spreading and slightly channelled. In three days the growth was more massive with the outer edges darker and more raised and more opaque than the centre. At the end of 25 days the appearance was still the same and there was no liquefaction of the gelatine. In 35 days a few drops of liquefied gelatine had collected at the bottom of the tube. In 44 days the amount of liquid was larger and a portion of the growth had settled to the bottom of the flask.

During some work on Bacillus tracheiphilus, which does not grow on ordinary beef peptone gelatine, a number of special gelatines were made up in order to find out the best media for the growth of this organism, and these were also used for B. solanisaprus. The gelatine was treated by soaking it in a solution of 60 ccm. of normal potassium hydrate made up with distilled water to 1000 ccm. The gelatine was placed in this at room temperature for 16 hours when most of the water was absorbed. The gelatine was then taken out and washed in running water for 64 hours, at the end of this time the gelatine weighed 1125 g. The reaction was faintly alkaline to phenolphthalein and strongly alkaline to litmus. This gelatine served as a base for a number of different gelatines.

1) 10% washed gelatine + litmus. (Merck's purified free. from red colorifics.) A stab culture made in this medium showed slight growth with slight liquefaction in 3 days and no change of color. There was a slight increase of the liquefied area up to 10 days, after which there was no further change. Length of time under observation, 53 days.

2) 5 ccm of decinormal sodium hydrate added to 50 ccm. of the washed gelatine and litmus. In three days there was good growth along the entire line of puncture, no liquefaction and no change of color. In 10 days there was slight liquefaction. In 17 days the liquefied pit was napiform in shape and on the fifthy-third day it was about the size and shape of an acorn.

3) Same as No. 2, but with resolic acid instead of litmus. Growth similar to 2. No change in color.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Washed gelatine + $2\frac{1}{2}$ g of Liebig's extract of meat per litre + rosolic acid. In 3 days good growth, napiform liquefaction. The pit was 5 mm in diameter. In 10 days the liquefied area was 12 mm in diameter, large deposit at the lowest point, color less intense. In 53 days the liquefaction in the upper half of the tube was stratiform and the lower half saccate.

5) Washed gelatine + $\frac{1}{2}$% ammonium carbonate + litmus. In 3 days there was growth, very slight liquefaction and no change in color. The liquefied area grew slightly larger up to the 17th day, with no change of color. On the 53rd day the liquefaction was napiform.

6) Washed gelatine + 1% peptone + 5 ccm of decinormal hydrochloric acid in 50 ccm. of the gelatine + litmus. In 3 days there was slight growth, no liquefaction or change in color. No further change for 50 days.

7) Washed gelatine + 1% peptone + litmus. Good growth, slight liquefaction; small pit was formed and no change in color. Subsequently the pit became napiform, and on the 53rd day it was the shape and size of a large acorn.

8) Washed gelatine + 2% saccharose + litmus. A shake culture showed growth throughout the medium in 3 days. The color was intensely red, slightly blue on the surface, no gas was present. In 10 days the red coloration had spread to the surface, the depths of the medium were faintly red, no gas was formed. Liquefaction began the 20th day, and the whole tube had liquefied at the end of the 50th day. The medium was red in color.

9) Washed gelatine + 2% saccharose + 1% peptone + litmus. In 3 days there was good growth, slight liquefaction, and color blue. In 10 days the color was deep red, slight stratiform liquefaction. On the 53rd day there was stratiform liquefaction to a depth of 9 mm, red in color.

10) Washed gelatine + 1% peptone + 6% saccharose + litmus. In days there was good growth, intensely red in color, no gas. In 10 days there was a red ring at the surface, beneath the ring the medium was yellow in color, no gas. In 17 days the whole medium was of a pink color and this continued up to the 53rd day, when there was slight pitting of the gelatine at the surface.

11) Washed gelatine + 1% peptone + 12% saccharose + litmus. Behaved same as No. 10.

12) Washed gelatine + 2% glycerine + 1% peptone + litmus. In days there was good growth; no gas and no change in color. In 10 days color was somewhat bleached and slightly red at the surface, no gas. In 17 days slightly bleached below surface, the remainder blue. On 53rd day there was slight stratiform liquefaction 10 mm. deep, blue in color below the bleached out portion at the surface.

13) Washed gelatine + 6% glycerine + 1% peptone. Same as No. 12.

14) Washed gelatine + 1% peptone + 2% galactose + litmus. In 3 days there was good growth, color was red and there was no gas. In 10 days there was a red ring at the surface and the remainder of the medium was yellowish. In 17 days the red color began to return and on the 45th day the whole medium was red and there was pitting at the surface.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15) Washed gelatine + 1 % peptone + 2 % mannite. In 3 days there was good growth and 5 large, lenticular gas bubbles. In 10 days there were 10 large, irregular gas bubbles and no further change occurred. In 53 days there was a dry pit at the surface; the gas bubbles were still present.

16) Washed gelatine + 1 % peptone + 2 % lactose + litmus. In 3 days there was good growth. Color of the tube was red, but surface blue, no gas. In 10 days there was a red ring at the surface, the remainder of the gelatine was blue. Two large gas bubbles were present. In 17 days the red color returned, but there was no increase of gas. In 53 days the medium in all tubes was red and the gas bubbles were still present.

17) Washed gelatine + 1 % peptone + 2 % glucose + litmus. In 3 days there was good growth and no gas. The color was intensely red, but blue at the surface. In 10 days the surface was red, pink beneath. In 17 days the red color returned. In 53 days the whole medium was a deep red and was drying out.

18) Washed gelatine + 1 % peptone + 2 % dextrin + rosolic acid. There was good growth; the color was blue to a yellowish pink; red on the surface, no gas. In 10 days the color was pink at the surface and blue beneath. In 53 days the whole medium was pink and becoming dry.

19) Washed gelatine + 2 % maltose + litmus. In 3days there was good growth, red color, no gas, and slight liquefaction at the surface. In 10 days the color was red at the surface, blue beneath with slight liquefaction. In 17 days the red color had entirely returned, and on the 43rd day the whole tube was liquefied.

Agar. There was good growth on beef peptone agar with reaction of + 1,8 %. In 24 hours at 25° C punctiform colonies were visible to the naked eye. Viewed under the microscop with a magnification of 94 diameter they appeared round to elliptical, averaged 56 $\mu$ in diameter and were slightly granular with entire edges.

Surface Colonies. At the end of two days surface colonies were from 1 to 5 mm. in diameter, roughly circular in shape, opalescent in transmitted light, flat, moist, and shiny. Viewed under the microscope they were flat, very finely granular, edges sharp and entire. The centre appeared pale brown gradually becoming lighter at the margin, which was hyaline. In 3 days the colonies were much larger — 5 to 6 mm. in diameter — grayish white, moist, shiny, and flat. Colonies were opalescent in certain lights, the margins more so than the centre. When held directly between the eyes and the light the color was smoky brown. The microscopical appearance was unchanged. The colonies gradually increased in size up to the fifth day, after which there was no further change.

Deep colonies. In 48 hours the deep colonies were still punctiform to the naked eye. Microscopically, they were round to lenticular in shape, about 0,5 mm in diameter. With open diaphragm they were almost opaque, but some were darker in the centre with a lighter margin. The edges were entire or very slightly erose. In 3 days there was an increase in size, otherwise the appearance was the same. No further change occurred.

Agar streak cultures at 25° C. In 24 hours there was good growth about 2 mm. wide along the line of inoculation. At the end of

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

two days the growth became more massive and spread to a with of 4 mm. The margin was regular, surface relief slightly elevated, glistening white by reflected light and smoky brown by transmitted light, the lustre moist and shiny and slightly opalescent. Growth at 20° was similar but slower. At 37° a very small patch of growth formed at the bottom of the slope. There was no increase in this after 25 days incubation.

On Holz's potato agar at 25°, the growth was more abundant, more opaque and browner by transmitted light. The growth on the potato agar at 20° equalled the growth on beef peptone agar at 25° C. There was practically no visible growth at 37°.

Carbo-hydrate agars. Cultures were made in beef peptone neutral agar containing 2 % of the following sugars: Glucose, Lactose, Saccharose, Glycerine, Maltose, Mannite, and Levulose. Both shake and slope cultures were made and kept at 25° C.

The relative amount of growth on slope cultures in the various tubes was marked on a scale of 5,5 indicating the greatest amount of growth and 1 the least.

Comparison of the amount of growth on carbohydrate agars at the end of 24 hours, 2 days and 3 days.

Each culture was stroked with a 2 mm. loopful of a 24 hours old bouillon culture.

| | 24 hours | 2 days | 3 days |
|---|---|---|---|
| Plain agar | 2 | 2 | 2 |
| Glucose | 4 | 1 | 1 |
| Lactose | 2 | 3 | 3 |
| Saccharose | 3 | 2 | 2 |
| Glycerine | 1 | 2 | 3 |
| Maltose | 5 | 5 | 5 |
| Mannite | 3 | 3 | 3 |
| Levulose | 4 | 1 | 1 |

The growth on the maltose agar was abundant, a raised, white band, brown by transmitted light, white by reflected light, moist, shining, and at suitable angles, iridescent. The growth on the other agars was similar, but less abundant as indicated above.

Gas formation in Agar. The first lot of agar made up contained 2 % of agar and 2 % of the various sugars named above. The melted agar was inoculated at about 42° C, cooled, and incubated at 25° C. Nearly all the growth in these tubes was at the surface and no gas developed in any of them. As the fermentation tube experiment showed development of gas in some sugars, this result was unexpected and was attributed to the density of the agar and the growth being almost entirely at the surface. A second lot of agar was made up containing only 1 % of agar. The tubes were inoculated from an agar culture and care was taken to have the material well mixed in the depths of the tube. The tubes were incubated at 25° C and at the end of 48 hours there were about 20 gas bubbles in the tube containing mannite and four bubbles in the tube containing lactose. No gas developed in the other tubes and, as in the preceding experiment, the growth in all the tubes was most abundant at the surface (see photograph). This experiment was repeated on several occasions, but always with the same result, — gas production in mannite and lactose media and no gas in the others.

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Bouillon + 1,5 %. There was rapid growth in broth at this temperature; diffuse turbidity and fine sediment. In 48 hours the turbidity and sediment increased. The sediment was fine and on shaking produced greater cloudiness. In 4 days a ring formed at the surface and in undisturbed tubes formed a thin band 3 or 4 mm. in depth. This was easily washed down and completely broken up when the tube was shaken. The cloudiness persisted but was less dense at 7 days than at 2. At the end of 3 weeks the media was still turbid, with a copious sediment. Growth at 20° C was similar but slower. The same changes occurred as in the broth held at 25°, but taking from 1 to 2 days longer. In inoculated tubes kept at 37°, for two days the bouillon was still clear, with a slight sediment at the bottom consisting of flocculent masses which, on being disturbed, produced slight cloudiness. No further change occured. Tubes were kept under observation for 3 weeks.

The reaction of cultures in bouillon which were originally neutral to phenolphtalein were as follows: At the end of 24 hours + 2,0 %; 2 days + 2,0 %; 3 days + 1,5 %; 6 days + 1,5 %; 12 days + 1,0 %; 18 days + 1,0 %.

Potato bouillon. In 24 hours at 25° C there was abundant growth. The liquid was very turbid, copious sediment with flocculent masses. In two days a ring of growth formed on the surface; the bottom of the tube was less cloudy but the sediment heavier. At the end of 3 days the ring of growth was more pronounced and the body of the liquid clearer. In 4 days the liquid was almost clear, small zoogloea masses and a ring on the surface. These subsided quickly and dissolved on slight shaking. In 8 days the bouillon was clear, with a ring on the surface and very heavy sediment.

Dunham's solution. In 24 hours at 25° the solution was faintly clouded with some fine sediment. This increased in amount but was never very heavy. The liquid remained turbid for over 20 days.

Dunham's solution + 1 % of the following: 0,5 grams of rosolic acid, 20 ccm. distilled water, 80 ccm. absolute alcohol. This solution was a deep pink. At the end of 24 hours there was good growth, the color less intense than that in the control tubes. No further change occurred (20 days).

Dunham's solution + 2 %, of 0,1 % aqueous solution of methylene blue. At the end of 24 hours the color was considerably reduced but in 48 hours the color returned and there was no subsequent change.

Milk. In milk with an acidity of + 1,0 %, at 25° C there was no visible change at the end of 24 hours. At the end of 48 hours the milk curdled into a soft curd in one mass. At the end of 3 days the curd had shrunk, became firmer, leaving a clear whey. A few minute gas bubbles visible. No further change occurred. The acidity of the separated clear whey at the end of 11 days was + 4,6 %, that is to say, an increase of + 3,6 %.

Litmus milk at 25° C. In 24 hours there was no change. At the end of 48 hours the milk was curdled into a soft curd and the color changed to a pale lilac. At the end of 3 days the curd was clear, shrunken, with a separation of clear whey. The color was reddish lilac. A few gas bubbles present. At the end of 4 days the color was slightly redder, otherwise no change. About the sixth day the lower portion of the curd commenced to bleach and by the end of the ninth day the lower 4/5 was

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

white and the upper fifth red. The color began to return about the 20th day and on the 24th day the whole of the curd was again reddish lilac. The whey was very clear. The acidity at the end of the 11th day was + 4,0 %. On boiling the curd fell to the bottom in pinkish masses. The separated whey was colorless. Odor resembled that of an acid curd and was quite pleasant.

Loeffler's blood serum at 25° C. In 24 hours there was good growth; slightly raised, waxy, pale yellow in color, the edges slightly higher than the centre. In 24 hours the growth had spread somewhat and became more massive. No further change occurred and there was no liquefaction. The tubes were kept under observation for 30 days.

Uschinsky's solution. In 24 hours at 25° there was a decided turbidity, the liquid appearing of a bluish color. Turbidity and sediment increased up to 3 days. In 6 days there was a ring of growth on the surface which extended to a depth of from 3 to 4 mm below the surface of the liquid. No further change occurred, and the cloudiness persisted for a considerable length of time.

Fermi's solution. Growth similar to that in Uschinsky's medium but slightly less in amount.

Potato. Potatoes prepared according to Roux's method. In 24 hours at 25° C there was good growth, slightly raised and spreading, dull, waxy and pale cream in color. In 48 hours the surface elevation was more pronounced and the growth was more massive. Color and other characters were the same. The color subsequently changed to a dirty white somewhat similar to the color of the potato. The potato itself was not discolored. There was very little softening.

On potatoes with the cylinder ½ immersed in water the growth was moister, more spreading and had less color. The water was slightly yellowish with considerable deposit. Color of the growth was dirty white, moist and glistening. There was only slight softening and no further change occurred (21 days).

## Growth on raw vegetables.

Nearly all the inoculations of raw vegetables were made in October. The vegetables in most instances were taken directly from the garden and brought to the Laboratory.

Sound specimens of average size were selected, and in the case of roots were washed, scrubbed in running water, and soaked for an hour in sublimate solution 1:1000, thick slices (20—40 mm. thick) were cut with sterilized knives and placed in deep Petri or double dishes at the bottom of which was filter paper saturated with bichloride of mercury solution (1—5000).

In the case of celery, cabbage, cauliflower, etc., the whole plant after thorough washing and drying was cut down the middle with a sterilized knife and laid in large double dishes. The inoculations were made with a sterilized platinum needle charged at the point with a minute quantity of growth from an agar culture of the rot organism 24 hours old. Two or three stabs were made in the tissues.

In all cases check or control inoculations were made on vegetables by stabbing the tissues with a sterilized platinum needle and keeping them under the same conditions as the inoculated ones. In no case was there any evidence of rot or bacterial invasion on these controls.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

All vegetables were kept at room temperature which varied from 18—25° C.

Raw potato. In 24 hours a considerable area of the potato was moist, white and softened to a depth of 6 to 8 mm. At the end of two days nearly the whole slice was softened. Around the softened area there was a blackish discoloration. In four days the slice was entirely softened and from the fifth to the seventh day the peculiar and characteristic blackening of the potato commenced. The potato gave off an ammoniacal smell and small portions were placed in sterilized water and filtered. The filtrate tested with Nessler's reagent gave a deep yellow color, indicating the presence of ammonia. Strops of filter paper moistened with lead acetate and left in the culture vessels became blackened, indicating the presence of sulphuretted hydrogen.

Jerusalem artichoke. At the end of 24 hours there was a diseased area of 20 by 10 mm. and softening occurred to a depth of 2 to 3 mm. The color of the rotted portion was reddish brown. At the end of 2 days the reddish brown discoloration was much more marked. The color around the site of inoculation was darker than at the edge. Softening progressed in area and depth. In 4 days the centre become yellowish with a reddish brown zone around the softened area. The softening gradually increased and in 7 to 10 days the whole slice was quite rotten.

Cucumber. At the end of 24 hours there was a considerable softened area between the rind and the seeds. The diseased portion had a translucent appearance. In 48 hours nearly the whole solid portion between the rind and seeds was translucent; softening very marked and to a depth of 8 to 10 mm. In 4 days the whole of the interior within the rind was softened and sunken with a whitish film over the depressed area.

Red carrot. At the end of 24 hours there were large drops of turbid water on the surface of the carrot and immediately over the puncture. There was slight softening of the tissues beneath the water. In 48 hours there was considerable increase of the turbid water at the surface and softening progressed rapidly until the fifth to the eighth day, when the whole slice of carrot was completely softened.

White carrot. In 24 hours the affected area had a water soaked appearance. An area of 10 to 12 mm. in diameter was covered with a white, turbid liquid. Around this there was an area of softened tissue of a pale straw color, with softening to a depth of 4 to 5 mm. In 48 hours the water soaked area had greatly increased, the pale straw color was changed to a rusty red, most intense at the line of softened and sound tissue and gradually shading off to a lighter yellow toward the periphery of the carrot. In six days the centre had sunk somewhat and the color became more marked and gradually the whole slice softened.

Horse radish (edible portion). No change occurred. Several pieces of horse radish were repeatedly inoculated but without results.

Radish. In 24 hours there was a moist discolored area 4 to 5 mm. in diameter and softening to a depth of from 3 to 4 mm. In 48 hours the discolored area increased and the soft area was dark brown in color. In 4 days the color changed to brownish black and the whole slice was softened.

Red beet. In 24 hours there was slight pitting at the point of

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

inoculation, brown in color and dry. In 48 hours there was a slight increase in the pitting and the color of the pit became darker. There was slight increase of the blackened area up to four days but subsequently no further increase.

Sugar beet. In 24 hours there was a faint brown spot around the site of inoculation and slight softening to a depth of about 1 mm. This spot increased somewhat in size but after 48 hours growth ceased.

Parsnip. At the end of 24 hours there was a large drop of yellowish liquid on the surface of the parsnip. The liquid was turbid and the tissue beneath softened to a depth of 3 to 4 mm. In 48 hours the softening was still spreading; the water on the surface, was absorbed but the surface had still a moist appearance. In four days the central cylinder of the parsnip separated from the outer and the rot increased with age until in 14 days the whole slice was rotted.

Cauliflower. In 24 hours there was a small pit, 7 to 9 mm. deep, at the point of inoculation. Along the pit there was a translucent zone of tissue which was softened. In 48 hours the pit became deeper and the surrounding tissue darker in color and very soft. From now on the rotting area extended quickly. The color might be best described as a greenish black.

Cabbage. Cabbage was inoculated at the apex of the stem and in 24 hours a large drop of turbid liquid appeared at the surface. The tissue beneath was softened to a depth of about 5 mm. In 48 hours the softening had extended rather rapidly. The color was a pale brown. From now on the softened area extended more rapidly, involving the whole of the stem and the bases of the leaves. The color of the rotted portion became darker.

Celery. In 24 hours there was a brownish moist discoloration 25 by 12 mm, with softening to a depth of 5 to 6 mm at the crown. In 48 hours the discolored area increased and there were drops of liquid between the sound and the diseased tissue. From now on the softened area increased, otherwise there was no change.

Mangelwurzel. In 24 hours there was softening to a depth of 4 to 5 mm. around the point of inoculation. The color of this area was a pale brownish black. In 48 hours the discolored area had extended and softened. In 4 days the area of discoloration was still extending, reddish black at the periphery and darker at the centre. The whole slice softened in 14 days.

Swede turnip. In 24 hours there was pitting at the point of inoculation. The tissue around and at the bottom of the pit was softened and brownish in color. In 48 hours a large drop of sputumlike liquid filled the pit and around this was a brown discolored area. Softening and discoloration extended rapidly until in six to eight days the whole slice was involved.

White turnip. In 24 hours there was a large spot slightly depressed and brownish in color around the point of inoculation. There was softening to a depth of 12 mm. In 48 hours there was a rapid spread of the discolored area and extensive softening. In 5 to 8 days the whole slice was involved.

(Conclusion follows.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:40 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die Bedingungen der Entstehung der durch Sclerotinia fructigena erzeugten „Schwarzfäule" der Aepfel.

Von **Emil Molz,**
Assistenten a. d. pflanzenpathologischen Versuchsstation der Königl. Lehranstalt zu Geisenheim a./Rh.

Mit 5 Figuren und 2 Tafeln.

Als eine besondere Erscheinungsform der Fäulniswirkung der Sclerotinia fructigena Pers. auf Aepfeln wurde seither die „Schwarzfäule" beschrieben. Der Name stammt von Sorauer[1]) und ist sinngemäß dem äußeren Ansehen solcher Früchte entlehnt. Eine „schwarzfaule" Frucht zeigt außen eine mehr oder weniger tief glänzend schwarze Farbe, die gemeinhin aber nur in der Schale vorhanden ist, während das Fruchtfleisch sich in der gewöhnlichen braunen Farbe der Monilia-faulen Aepfel darbietet. Die Pilzpolster der Sclerotinia fehlen meist ganz oder sind doch nur sehr spärlich vorhanden. Das Innere solcher Früchte ist von dem Sclerotinia-Mycel durchwuchert.

Ueber die Ursache des Zustandekommens der „Schwarzfäule" war man seither noch im unklaren. Einige Forscher, so namentlich Wehmer[2]) und Woronin[3]), glauben, daß die stärkere Entwickelung der Cuticula der Apfelhaut diese Fäulnisform bedinge. Nach dem letzteren Autor „scheint der Pilz nicht die genügende Kraft zu besitzen, die derbe Cuticula durchzubrechen und verflechtet sich unterhalb dieser letzteren zur schwarzen panzerartigen, sklerotischen Rindenschicht". Es handelt sich hierbei aber nur um Ansichten, die der experimentellen Grundlage entbehren.

Auf Anregung von Herrn Dr. Lüstner, dem Vorstande unserer Station, habe ich die Bearbeitung dieser Frage aufgenommen, um auf dem Wege des Experimentes eine wissenschaftliche Lösung derselben herbeizuführen.

Es lag von vornherein nahe, anzunehmen, daß zwischen der „Schwarzfäule" und dem Mangel an Pilzfruktifikation eine direkte oder indirekte ursächliche Beziehung bestehen müsse, denn es ist mit der ersteren Erscheinungsform die zweite mehr oder weniger eng verbunden, d. h. es tritt die Schwarzfärbung um so eher ein, je mehr die Fruktifikationspolster fehlen. Auf der anderen Seite schließt die Fruktifikation die Schwarzfärbung der Schale nicht aus, sie tritt aber dann meist erst viel später ein. Unter Zugrundelegung dieser Tatsachen wird man unmittelbar zur Untersuchung derjenigen Faktoren hingelenkt, die geeignet sind, auf die Fruktifikation unseres Pilzes einen hemmenden Einfluß auszuüben.

Dieserhalb führten mich einige Beobachtungen zu der Annahme, daß das Licht hierbei eine sehr bedeutende Rolle spielen müsse. Mehrere infizierte Aepfel, die ich an einem Fenster meines Laboratoriums aufgestellt hatte, zeigten nur auf der dem Lichte zugekehrten Seite fruktifizierende Polsterchen, während die Unterseite, wie auch die Rückseite

1) Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. II. p. 298.

2) Wehmer, C., Monilia fructigena und die Monilia-Krankheit der Obstbäume. (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XVI. 1898.)

3) Woronin, M., Ueber Sclerotinia cinerea und Sclerotinia fructigena. Petersburg 1900. p. 23.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser Früchte mehr oder weniger vollkommen frei davon blieb. Diese letzteren Partieen wurden sehr bald schwarz, während die dem Lichte zugekehrte Seite diese Dunkelfärbung der Schale nicht zeigte. Einen dieser Aepfel finden wir in Fig. 1 dargestellt. Weiterhin wurde eine Anzahl Aepfel zur Hälfte mit Ruß bestreut, dann an der Grenzlinie zwischen berußter und rußfreier Apfelseite mit Sclerotinia fructigena geimpft. Diese Versuchsobjekte erhielten an einem Ostfenster eines geheizten Zimmers Aufstellung, und zwar so, daß beide Apfelseiten, sowohl die berußte wie die nichtberußte, möglichst gleichmäßig von außen Licht erhielten. Da die Sonne jedoch in der winterlichen Jahreszeit einen sehr südlichen Stand hat, so wurde bei Sonnenlicht naturgemäß die eine Hälfte stärker beschienen als die andere. Es wurden deshalb die Früchte so gestellt, daß ein Teil derselben die berußte Seite auf dem südlichen,

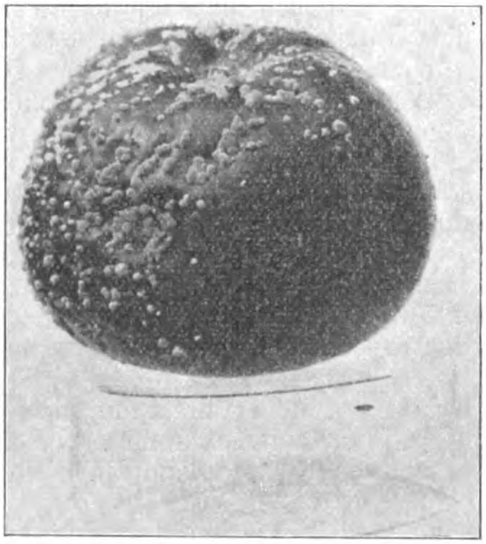


Fig. 1,

Fig. 2.

Fig. 1. Entwickelung der Conidienpolster von Sclerotinia fructigena auf einem Apfel bei einseitig stärkerer Belichtung.

Fig. 2. Verhinderung der Entstehung der Conidienpolster von Sclerotinia fructigena durch Bestreuen der einen Apfelhälfte mit Ruß.

ein anderer Teil diese auf der nördlichen Seite hatte. Nach etwa 10 Tagen waren die Früchte, die sich in großen gedeckten Schalen befanden, sämtlich durchaus faul. Diejenigen, deren Hälfte nördlich berußt war, zeigten auf dieser Seite keine Pilzpolster, nur auf dem oberen mehr besonnten Fruchtteil waren einige Polsterinitiale wahrzunehmen (Fig. 2). Die anderen zeigten auf dem berußten Teil nur eine sehr geringe und sehr lückenhafte Fruktifikation. Bei beiden Aufstellungsarten bildete der Pilz auf den rußfreien Apfelseiten recht gute Fruktifikationspolster. Es sei hier aber ausdrücklich bemerkt, daß diese Versuche im Winter ausgeführt wurden, zu einer Zeit, wo die Lichtintensität infolge des meist bedeckten Himmels sehr herabgestimmt ist, ein Moment, das bei einer event. Nachprüfung entsprechend berücksichtigt werden muß. Auch in diesem Versuche wurden die nicht fruktifizierenden Hälften sehr

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bald äußerlich schwarz, während die mit Pilzpolster bedeckten Apfelseiten in kurzer Zeit einschrumpften und zumeist wenig oder gar keine Schwärzung der Schale zeigten. Diese Versuche lassen sich in verschiedenster Weise variieren. So wurde ein Apfel mit seinem unteren Teil in den Deckel einer innen und außen mit schwarzem Papier ausgeklebten Schachtel zur Hälfte eingelassen und durch Watte die Fugen zwischen Pappe und Apfel fest verschlossen. Diese Watte wurde darauf noch mit heißem Wasser und später mit schwarzem Lack überstrichen. Das Licht war so von dem unteren Apfelteil vollkommen abgehalten. Stellt man den so präparierten und an der Grenzlinie zwischen dem abgedunkelten und hellen Teil infizierten Apfel nun ans Fenster, so wird der obere Teil schöne Ringe ausbilden, während der in der Schachtel befindliche dunkle Teil steril bleibt. Es ist bei Ausführung dieses Versuches darauf zu sehen, daß der benutzte Dunkelraum ein möglichst großer ist, da anderenteils durch die starke Transpiration des faulenden Apfels innerhalb dieses Raumes eine sehr feuchte Luft entsteht, die ihrerseits Luftmycelbüschel aus den Lenticellen hervorlockt. Diese sind jedoch fast durchgehend steril; man sieht das schon makroskopisch an ihrer weißen Farbe; mit dem Mikroskop sind neben sterilen und sehr dünnen Mycelfäden (Fig. 3) nur hie und da einige unregelmäßig torulierte Hyphen wahrzunehmen (Fig. 4).

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 3. Steriles Luftmycel von Sclerotinia fructigena.
Fig. 4. Unregelmäßig toroliertes Luftmycel von Sclerotinia fructigena.

Zur weiteren Klärung dieser Beobachtung wurde nun eine große Reihe von Versuchen angestellt, von denen die wichtigsten im Nachstehenden mitgeteilt seien. Die zu den Versuchen verwandten Aepfel waren stets von gleicher Sorte und wurde auch bezüglich ihrer Größe und ihres Reifestadiums möglichste Gleichheit bei der Auswahl angestrebt. Zu Beginn des Versuches wurden dieselben mit einer über der Flamme steril gemachten Nadel mit Konidien aus Reinkulturen von Sclerotinia fructigena geimpft.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Versuch. Beginn am 28. Dezember 1905.

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Fruktifikation |
|---|---|---|
| 1 | zwei Aepfel an ein Ostfenster des Laboratoriums gestellt, Temperatur 18—20° C . | einseitige, dem Lichte zugekehrte Fruktifikationsringe |
| 2 | zwei Aepfel im Dunkeln in einem Thermostaten bei einer Temperatur von 28—33° C. Für Feuchtigkeit war durch Aufstellung einer Schale mit Wasser gesorgt | Fruktifikation fehlt. Schwarzfäule |
| 3 | zwei Aepfel dauernd beleuchtet, nachts mit zwei elekt. Glühbirnen, am Tage durch Tageslicht (das infolge des derzeit herrschenden Nebels sehr schwach war), Temperatur nachts 27—25° C, am Tage 18—20° C | normale Fruktifikationsringe |
| 4 | zwei Aepfel nachts in den Thermostaten bei 28—33° C, am Tage an einem Fenster bei 18—20° C | Fruchtbildung schwach in schlecht ausgeprägten Ringen; letzteres wegen Nichtbeachtung einer immer gleichen Lichtlage |
| 5 | zwei Aepfel nachts in den Thermostaten bei 28—33° C, am Tage in einem dunkeln Kasten bei 18—20° C | hie und da einige Fruchtpolster, doch ohne ringförmige Anordnung; dagegen sind einige ringförmige Einsenkungsfelder in der Schale vorhanden |
| 6 | zwei Aepfel nachts mit elektr. Glühbirnen beleuchtet, am Tage in einem dunkeln Kasten bei 18—20° C | Fruktifikation fehlt. Schwarzfäule |
| 7 | zwei Aepfel sofort nach der Impfung ins Freie gelegt bei einer Temperatur um den Nullpunkt (—5 bis + 5° C) | bei einem Apfel blieb die Impfung ohne Erfolg, der andere wurde faul, aber Fruktifikation trat nicht ein, auch keine Schwarzfärbung der Schale |

Diese Versuche wurden am 30. Januar 1906 mit einer anderen Apfelsorte wiederholt.

II. Versuch.

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Fruktifikation |
|---|---|---|
| 8 | wie No. 1 | Ringbildung der Fruktifikation auf der dem Fenster abgewandten Seite nur schwach entwickelt |
| 9 | wie No. 2 | Fruktifikation ohne Ringbildung auf einer kreisförmigen Fläche von 2,5 cm Durchmesser im Anfang des Faulflecken vorhanden, später brechen die Polster spärlicher in unregelmäßigen Feldern hervor |
| 10 | wie No. 3, in derselben Weise wurde eine Birne behandelt | bei den Aepfeln starke Fruchtpolsterbildung in Ringen, bei den Birnen fruktifiziert der ganze Faulfleck in gleichmäßiger Fläche |
| 11 | wie No. 4 | Fruchtpolsterbildung schwach in unregelmäßigen Ringen |
| 12 | wie No. 5 | ringförmige Einsenkungsfelder, Fruktifikation spärlich und unregelmäßig |
| 13 | wie No. 6 | einige sehr schwache Fruktifikationsringe |

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| Versuchsnummer | Versuchsbedingungen | Fruktifikation |
|---|---|---|
| 14 | zwei Aepfel in einem kalten Raum ans Fenster gelegt, Temperatur 5 bis 6° C | fehlt |
| 15 | zwei Aepfel bei 5—6° C in einem Dunkelkasten | fehlt |

Um aber auch bezüglich der Ernährungsbedingungen gut vergleichbare Faktoren zu schaffen, und um gleichzeitig den Einfluß der verschiedenen Konzentration des Nährmediums, sowie der verschiedenen Zusammensetzung desselben bei festem und flüssigem Substrat unter verschiedenen Bedingungen der Beleuchtung und der Temperatur kennen zu lernen, wurden die nachfolgenden Versuche zur Ausführung gebracht:

III. Versuch. Beginn am 8. März 1906.
Dunkelkulturen bei 18—20° C.

| Versuchsnummer | Versuchsbedingungen | Resultat am 19. März |
|---|---|---|
| 16 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine | fast durchaus steril, im Zentrum des Thalloms sind unregelmäßig zerstreut einige weiß aussehende Fruktifikationsräschen sichtbar |
| 17 | vier Petri-Schalen mit 10 Proz. Birndekokt | Fruktifikation fehlt, sehr spärliches Luftmycel |
| 18 | vier Petri-Schalen mit 10 Proz. Apfelmost + 90 Proz. dest. Wasser | Fruktifikation fehlt, fast kein Luftmycel |
| 19 | vier Petri-Schale mit 50 Proz. Apfelmost + 50 Proz. dest. Wasser | Fruktifikation fehlt, Luftmycel ziemlich entwickelt |
| 20 | vier Petri-Schalen mit unverdünntem Apfelmost | Fruktifikation fehlt, Luftmycel gut entwickelt |
| 21 | vier Aepfel in mäßig feuchter Kammer | Fruktifikation fehlt, hie und da einige aus den Lenticellen hervorbrechende Lufthyphen, die aber steril sind |
| | Dunkelkulturen bei 28—33° C. | |
| 22 | wie No. 16 | größtenteils steril, nur im zentralen Teil der Thalloms eine Zone von 20—25 mm Durchmesser, wo Fruktifikationspolsterchen mit regelmäßiger Sporenbildung vorhanden |
| 23 | wie No. 17 | Fruktifikation fehlt, Luftmycel fehlt fast vollkommen |
| 24 | wie No. 18 | Fruktifikation fehlt, ebenso Luftmycel |
| 25 | wie No. 19 | Fruktifikation fehlt, Luftmycel entwickelt |
| 26 | wie No. 20 | Fruktifikation fehlt, Luftmycel sehr üppig entwickelt |
| 27 | vier Doppelschalen mit Brötchen und 10 Proz. Birndekokt | Fruktifikation fehlt, Luftmycel sehr wenig entwickelt |
| 28 | vier Doppelschalen mit Brötchen und 10 Proz. Apfelmost + 90 Proz. dest. Wasser | Fruktifikation fehlt, Luftmycel sehr wenig entwickelt |



Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Resultat am 19. März |
|---|---|---|
| 29 | vier Doppelschalen mit Brötchen und 50 Proz. Apfelmost + 50 Proz. dest. Wasser | Fruktifikation fehlt, Luftmycel gut entwickelt |
| 30 | vier Doppelschalen mit unverdünntem Apfelmost | Fruktifikation fehlt, Luftmycel sehr üppig entwickelt |
| 31 | vier Aepfel in mäßig feuchter Kammer | Lufthyphen zahlreich vorhanden, einige auch mit normaler Torulation |
| | Lichtkulturen bei 18—20° C, an einem Ostfenster. | |
| 32 | wie No. 16 | sehr deutliche Fruktifikationsringe |
| 33 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine unter einem weißen dünnen Leinentuch | Fruktifikationsringe sichtbar, aber weniger scharf markiert als bei No. 32 |
| 34 | vier Aepfel unter Lichtbedingungen wie No. 33 | Fruktifikation fehlt fast ganz |
| 35 | wie No. 17 | wenig Luftmycel, hie und da Sporenentwickelung namentlich in der Nähe des Randes der Schale |
| 36 | wie No. 18 | wenig Luftmycel, Fruktifikation sehr schwach |
| 37 | wie No. 19 | gut entwickeltes Luftmycel, das am Rande der Schale fruktifiziert |
| 38 | wie No. 20 | sehr üppiges Luftmycel, am Rande der Schale schön fruktifizierend |
| 39 | wie No. 27 | Fruktifikation gut |
| 40 | wie No. 28 | Fruktifikation gut |
| 41 | wie No. 29 | Fruktifikation gut |
| 42 | wie No. 30 | Fruktifikation sehr stark |
| 43 | vier Aepfel in mäßig feuchter Kammer | infolge des trüben Wetters blieben die Faulflecke anfänglich ohne Polsterbildung, doch trat dieselbe später an der Fensterseite hervor |

Für den nachfolgenden Versuch wurde Nährgelatine unter Verwendung von Apfel-, Birnen- und Traubenmost hergestellt.

Der verwandte Apfelmost enthielt 0,36 Proz. Ges.-Säure als Weinsäure berechnet
„ „ Birnenmost „ 0,54 „ „ „ „ „ „
„ „ Traubenmost „ 1,04 „ „ „ „ „ „

Diese Mostarten wurden zunächst mit 10 Proz. weißer Gelatine aufgekocht, dann filtriert nnd sterilisiert. Ein Teil der so gewonnenen Nährgelatine wurde mit Kalilauge neutralisiert.

IV. Versuch. Beginn am 3. April 1906.
Dunkelkulturen bei 18—20° C.

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Resultat am 29. März |
|---|---|---|
| 44 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine | Fruktifikation nur in einzelnen weißen Polsterchen in der Nähe des zentralen Teils des Thalloms (Taf. II, Fig. 1) |

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Resultat am 29. März |
|---|---|---|
| 45 | vier Plattenkulturen auf Birnen-gelatine | in der Nähe des Zentrums ein unregelmäßiger und relativ breiter (1,5 cm) Fruktifikationsring mit schwacher Sporenbildung, sonst steril |
| 46 | vier Plattenkulturen auf Trauben-gelatine | im zentralen Teil ein mehr oder weniger ringförmig angeordnetes Fruktifikationsfeld mit schwacher Sporenbildung, sonst steril |
| 47 | vier Plattenkulturen auf neutraler Apfelgelatine | sie bilden im zentralen Teil eine unregelmäßig kreisförmige Fruktifikationsfläche von 40—45 mm Durchmesser und normaler Braungelbfärbung, der äußere Teil des Thalloms bleibt steril |
| 48 | vier Plattenkulturen auf neutraler Birnengelatine | wie bei No. 47 |
| 49 | vier Plattenkulturen auf neutraler Traubengelatine | wie bei No. 47 |
| 50 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine, anfänglich als Dunkelkultur, später als Lichtkultur behandelt | das Thallom wuchs als Dunkelkultur fast steril, bildete später aber als Lichtkultur schöne Fruktifikationsringe |
| 51 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine anfänglich als Lichtkultur, später als Dunkelkultur behandelt | zeigte umgekehrtes Verhalten wie No. 50 |
| 52 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine aus der Dunkelstellung 1 Tag in Lichtstellung | es bildete sich auf der sonst sterilen Kultur ein deutlicher Fruktifikationsring (Taf. I, Fig. 2) |
| | Dunkelkulturen bei 28—33° C. | |
| 53 | wie No. 44 | Thallom fast ganz steril, nur hier und da einige torulierte Hyphen |
| 54 | wie No. 45 | nur im zentralen Teil schwache Fruktifikation |
| 55 | wie No. 47 | Fruktifikation in unregelmäßig stehenden Polsterchen auf der ganzen Platte, im zentralen Teil (in einem Durchmesser von 35—40 mm) am stärksten (Taf. II, Fig. 2) |
| 56 | wie No. 48 | wie bei No. 55 |
| | Lichtkulturen bei 18—20° C. | |
| 57 | wie No. 44 | gut markierte Fruktifikationsringe (Taf. I, Fig. 1) |
| 58 | wie No. 45 | wie bei No. 57 |
| 59 | wie No. 46 | das Wachstum des Thalloms etwas langsamer als bei No. 57 und 58; die Ringe sind deshalb auch dichter, aber gut markiert |
| 60 | wie No. 47 | Fruktifikation gut, Ringbildung vorhanden, aber undeutlich, da die ganze Fläche fruktifiziert |

Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Versuchs-nummer | Versuchsbedingungen | Resultat am 29. März |
|---|---|---|
| 61 | wie No. 48 | Fruktifikation gut, Ringbildung bei auffallendem Licht fast verschwunden, die ganze Kultur bildet oberseitig ein gleichmäßiges Fruktifikationsfeld |
| 62 | wie No. 49 | Fruktifikation deutlich in Ringen |
| 63 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine am Tage am Fenster, nachts mit zwei elektr. Glühbirnen beleuchtet (nachts 25—27° C) | Fruktifikation sehr üppig auf der ganzen Fläche, doch Ringbildung sichtbar, aber wenig scharf markiert |
| 64 | vier Plattenkulturen auf Apfelgelatine zur Kontrolle von No. 63, gleichfalls am Tage am Fenster und nachts unter die elektr. Glühbirnen, doch vorher in schwarzes Papier eingehüllt (nachts 25—27° C) | Fruktifikation sehr üppig, Ringbildung scharf markiert |
| | Lichtkultur bei 7° C. | |
| 65 | eine Plattenkultur auf Apfelgelatine an einem Westfenster, Temperatur durch die Schale umspülendes Wasser konstant auf 7° C gehalten | das Wachstum des Thalloms sehr langsam, namentlich im Anfang; Fruktifikation sehr spärlich in Form eines hellbräunlichen Anfluges ohne Ringbildung; später stieg die Temperatur auf 8—9° C und das Mycelwachstum war infolgedessen etwas schneller, jetzt auch Ringbildung vorhanden. |

Wir sehen aus den vorangeführten Versuchen, daß auf die Fruktifikation von Sclerotinia fructigena sowohl das Licht als auch Wärme und Substratcharakter, sowie endlich auch rein mechanische Einflüsse (Apfelschale) einen Einfluß haben. Das Licht begünstigt die Fruchtbildung, Dunkelheit retardiert dieselbe oder hebt sie ganz auf. Saure Nährböden scheinen für die Sporenentwickelung weniger günstig zu sein als neutrale, wenigstens entwickeln sich auf letzteren auch in der Dunkelheit besonders bei höherer Temperatur zahlreiche, regelmäßig torulierte Sporenräschen. Wärme (28—33° C) begünstigt die Sporenbildung, niedere Temperatur (5—7° C) hemmt dieselbe erheblich oder hebt sie, besonders wenn noch ein mechanisches Hindernis (Apfelschale) dazu kommt, ganz auf.

Bei allen Aepfeln, bei denen die Fruktifikation der Sclerotinia ausblieb, trat über kurz oder lang „Schwarzfäule" ein. Wir haben aber gesehen, daß sowohl Lichtmangel als auch niedere Temperatur Sterilität der Sclerotinia auf Aepfeln im Gefolge haben.

Mit der Abhängigkeit der Fruchtpolsterbildung von Sclerotinia fructigena auf Aepfeln vom Lichte ist uns aber gleichzeitig ein Schlüssel gegeben für die Erklärung der ringartigen Anordnung der Fruktifikationsanlagen, die bedingt ist durch den Beleuchtungswechsel zwischen Tag und Nacht und die dadurch ausgelöste Periodizität derjenigen physiologischen Vorgänge, die durch das Licht beeinflußt werden. Sehr deutlich kann man bei Kul-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

turen in Petri-Schalen auf Fruchtgelatine sehen, wie an den äußersten Enden des meist kreisförmigen Pilzthalloms durch Emporwachsen von Lufthyphen, die später Sporen abschnüren, die Fruktifikationsringe während des Tages angelegt werden. Das Zuwachsmycel während der Nacht ist gerade wie dasjenige bei Dunkelkulturen dem Substrat eng angeschmiegt und steril. Die Markierung der Ringe ist bei sonst gleichen Bedingungen um so schärfer, je mehr Sonnenlicht ein Tag hat. Es sind also die jüngsten Mycelenden, die den Lichtreiz perzipieren, was man auch klar daran erkennen kann, daß eine schon etwas ältere Dunkelkultur, die bereits nahezu die ganze Schale ausgewachsen hat, ins Licht gestellt, fast nur an ihrer Peripherie Sporenräschen in größerer Anzahl bildet, während diese auf der mehr zentralen Fläche nur spärlich und erst später erscheinen. Kulturen, die ich nachts mit elektrischem Licht beleuchtete, zeigten deutlich Uebergänge zwischen den einzelnen Ringen. Ohne Zweifel könnte man durch ein dem Tageslicht bezüglich des Helligkeitsgrades und der Zusammensetzung der Strahlengattungen gleichwertiges Licht durch nächtliche Beleuchtung die ringartige Anordnung der Sporenpolster gänzlich eliminieren. Sehr eng rücken die Ringe aufeinander, wenn der nächtliche Zuwachs infolge niederer Temperatur nur ein geringer ist, am Tage aber neben heller Beleuchtung auch noch günstige Wachstumsbedingungen (Wärme, Feuchtigkeit) gegeben sind. Manchmal treten aber auch in der Dunkelheit bei Plattenkulturen hier und da einige Ringe auf, die namentlich bei durchfallendem Lichte wahrnehmbar sind. Dieselben verdanken ihre Entstehung verschiedenen Ursachen. Zumeist stellen sie eine wellenartige Aufbauchung des Thalloms dar, die entsteht infolge der verschiedenen Spannungswiderstände eines unter wechselnder Temperatur gewachsenen Mycelbelags, oder aber die Gelatine erhält bei etwas höherer Temperatur eine flüssige Beschaffenheit, infolge welcher die Mycelenden einsinken und dann bei wieder sinkender Temperatur und der dadurch bewirkten größeren Festigkeit des Substrates ein ringförmiges Einsenkungsfeld des Thalloms bilden.

Sehr häufig zeigen die faulwerdenden Früchte sehr unregelmäßige Ringbildung oder gar vollkommen regellose Verteilung der Fruktifikationspolster. Bislang glaubte man darin die Wirkung mehrerer Infektionsstellen auf einer Frucht sehen zu können, und es kann ohne Zweifel dadurch die Erscheinung hervorgerufen werden. Aber wir müssen dafür noch andere Ursachen verantwortlich machen. Bringt man nämlich einen Sclerotinia-faulen Apfel, den man durch Lichtentzug an der Fruchtbildung gehemmt hat, ins Licht bei feuchter Lagerung, dann werden nach einiger Zeit unregelmäßig verteilte Fruktifikationspolster aus der Schale hervorbrechen, und wir werden die oben angeführte regellose Anlage der Fruktifikationsfelder wohl meist diesem Umstande zuzuschreiben haben — also einer Reihe von trüben Tagen mit nachfolgender sonnenreicher Periode bei feuchtem Wetter. Beim Experimentieren erhielt ich häufig, besonders bei trübem Wetter, schlechte und unregelmäßige Ringbildung durch Nichtbeachtung immer der gleichen Lichtlage beim Aufstellen der Früchte, wenn der Versuch einen häufigen Wechsel des Standortes erforderte.

Die Sclerotinia fructigena ist gegen niedere Temperatur sehr empfindlich, es wird dadurch nicht nur das Mycelwachstum gehemmt, sondern in gleicher Weise auch die Fruktifikationsanlagen beeinflußt. Geimpfte Aepfel, die bei 5—7° an einem Ostfenster lagen, zeigten nicht eine Spur von Fruktifikation, ihre Schale färbte sich nach kürzerer oder

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

längerer Zeit schwarz. Das Pilzthallom einer auf Apfelgelatine sich entwickelnden Kultur zeigte unter sonst gleichen Bedingungen innerhalb 10 Tagen bei 7° C 16 mm Durchmesser, während eine andere Kultur bei ca. 20° C innerhalb dieses Zeitraums bereits 80 mm Durchmesser erlangt hatte.

Bemerkenswert ist für die Kulturen auf Nährgelatine die Tatsache, daß bei ihnen sowohl der Effekt einer geringeren Lichtintensität, wie auch besonders die Verhinderung der Fruktifikation infolge niederer Temperaturgrade nicht in gleich scharf pointierter Weise zum Ausdruck kommen, wie bei den Früchten. So zeigten Kulturen in Petri-Schalen auf Apfelgelatine bei 7—8° C Ausbildung von, wenn auch ganz schwachen Fruktifikationsringen mit regelmäßiger Sporenentwickelung (vergl. Fig. 5), während geimpfte Aepfel unter gleichen Bedingungen vollkommen steril blieben. Aepfel, die unter einem dünngewebten, weißen Leinentuch lagen, blieben steril, während unter denselben Lichtbedingungen aufgestellte Kulturschalen Fruktifikation zeigten. Auch Kulturen im Dunkelkasten in Petri-Schalen zeigen hie und da torulierte Pilzräschen mit regelmäßiger Sporenabschnürung. Aus der letzteren Beobachtung ergibt sich der zwingende Schluß, daß sich die Sporenbildung nicht in enger Abhängigkeit von dem Lichteinfluß befindet. Diese Folgerung erhält aber eine weitere Stütze noch dadurch, daß man durch gewisse Abänderungen des Nährmediums die Wirkung der Dunkelheit auf die Ausbildung der Fruktifikationsorgane noch mehr schwächen kann. So entwickelten Kulturen auf neutralem Substrat auch im Dunkeln besonders bei höherer Temperatur auf der ganzen Fläche, vorwiegend aber im zentralen Teil, Fruchtpolsterchen mit regelmäßiger Konidienbildung. Kulturen auf neutralem Substrat am Fenster fruktifizierten auf der ganzen Fläche mit nur schwacher Andeutung von Ringen.

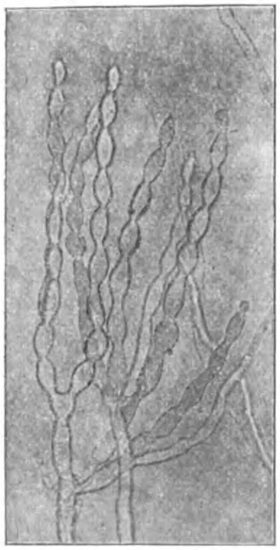


Fig. 5. Normal torulierte Fruktifikationshyphen von Sclerotinia fructigena.

Besonders schöne Fruktifikationspolsterchen, aber ohne Ringbildung, erhielt ich im Dunkeln, wenn ich Plattenkulturen auf neutralem Substrat bei erhöhter Temperatur (ca. 30° C) züchtete (siehe Fig. 2, Taf. II).

Das Faktum, daß das Licht bei manchen lichtempfindlichen Pilzen in seiner Wirkung durch andere Faktoren ersetzt werden kann, wird schon von Brefeld (Schimmelpilze III, p. 95) erwähnt. Dieser beobachtete, daß bei Coprinus stercorarius eine höhere Temperatur auch in der Dunkelheit Hutbildung erzeugt, während die Ausbildung dieses Fruktifikationsorganes sonst an das Licht gebunden ist. Nach Lendner[1]) entstehen bei Mucor racemosus die Sporangien im Dunkeln, bilden aber unter bestimmten Ernährungsbedingungen die Sporen nur im Licht. Lendner hat bei seinen Untersuchungen sein

1) Lendner, Ann. d. scienc. naturell. 1897. Sér. VIII. T. III. p. 60.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Augenmerk besonders dem Einfluß der Beschaffenheit des Substrates auf verschiedene Pilze zugewendet und dabei die Tatsache konstatiert, daß die Unterschiede, die sich bei festen und flüssigen Nährmedien bezüglich der Anlage und Ausbildung der Fruktifikationsanlagen ergeben, in vielen Fällen den bei Licht- und Dunkelwachstum resultierenden Unterschieden gleichen. Meine bei Sclerotinia fructigena angestellten Beobachtungen liefern auch für diese Feststellungen neues Sammelmaterial, denn die Entwickelung unseres Pilzes auf flüssigen Nährmedien hat bezüglich der Ausbildung der Fruktifikationsorgane eine große Aehnlichkeit mit den in Dunkelheit auch auf festem Substrat gewachsenen Kulturen. Die spärliche Sporenbildung der Monilia auf Fruchtsaft wurde übrigens schon im Jahre 1894 durch Wortmann[1]) wahrgenommen und später durch Behrens[2]) nochmals bestätigt. Letzterer glaubt, daß eine Anhäufung von Kohlensäure oder ein allzugroßer Feuchtigkeitsgehalt innerhalb der Kulturgefäße oder beide Umstände vereint diesen Effekt hervorbringe. Gegen diese Ansicht ließ sich jedoch einwenden, daß der $CO_2$-Gehalt in Petri-Schalen bei Gelatinekulturen wohl kaum geringer ist als bei Fruchtsaftkulturen, und ebenso scheint es sich mit dem Feuchtigkeitsgrad der Luft innerhalb dieser Gefäße zu verhalten. Dieser ist auch bei Anwendung von Gelatine fast immer auf dem Sättigungspunkt, was man leicht daran erkennt, daß sich zumeist kondensierter Wasserdampf in Tropfenform an dem Schalendeckel niederschlägt. Auch die Tatsache, daß in feuchten Glasschalen liegende Sclerotinia-faule Aepfel viel stärker fruktifizieren als solche, die von trockener Luft umgeben sind, spricht gegen die obige Annahme.

Aber man kann durch einen einfachen Versuch auch beweisen, daß die von Behrens angeführten Momente für die in Rede stehende Erscheinung ohne Bedeutung sind. Bringt man in die Mitte einer mit Apfelsaft etwa 3 mm hoch angefüllten Petri-Schale ein Stückchen porösen, vorher steril gemachten Holzes und impft hierauf sowohl die Flüssigkeit, wie das von ihr durchtränkte Holz mit Sclerotinia-Sporen, so wird später das Mycel auf dem Holz fruktifizieren, in der unter gleichen Bedingungen stehenden Flüssigkeit aber mehr oder weniger steril bleiben. Nur am Rande der Schale kriecht das Mycel empor und hier auf der festen Unterlage fruktifiziert es auch. Es ist auch nicht der Sauerstoff, der für diese Erscheinung ursächlich bedingend in Betracht kommt, denn auch bei größerem Luftraum wird man die gleiche Beobachtung machen können. Ich neige vielmehr zur Ansicht, daß der Pilz durch Einwirkung irgend welcher Art das ihm zu Gebote stehende Substrat so chemisch verändert, daß Stoffe entstehen, deren Einwirkung auf den Pilz die Fruchtbildung auslösen. Bei flüssigem Substrat verhindert aber die ständig stattfindende Diffusion der Flüssigkeitsteilchen untereinander die Ansammlung solcher Stoffe und damit die Fruchtbildung.

Ein sehr geringer Feuchtigkeitsgehalt der Luft ist als ein direktes Hindernis für die Polsterbildung der Sclerotinia auf Früchten anzusehen. Die Feuchtigkeit fördert aber auch die Bildung von Lufthyphen, die aus den Lenticellen hervorbrechen. Diese sind namentlich bei der An-

1) Wortmann, J., Einige Beobachtungen über den Grind des Obstes, hervorgerufen durch Oïdium fructigenum. Bericht der Königl. Lehranstalt 1894/95. p. 64.

2) Behrens, J., Beiträge zur Kenntnis der Obstfäule. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 517.)

Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

steckung der anlagernden Früchte von ausschlaggebender Bedeutuug. Mehrere „schwarzfaule“ Aepfel hatte ich im Laboratorium dicht gegen gesunde Früchte gedrängt angelegt, ohne daß eine Ansteckung erfolgte, während in einem feucht gehaltenen, geschlossenen Gefäß die Uebertragung der Fäulnis auf diesem Wege durch Vermittelung von Luftmycel in einigen Fällen gelang (vergl. auch Wortmann, a. a. O.).

Für uns hat die Trockenheit der Luft aber deshalb noch ein besonderes Interesse, als sie imstande ist, die Wirkung einer ungenügenden Beleuchtung zu verschärfen, und dadurch die Fruktifikation auf Aepfeln in solchen Fällen vollkommen zu sistieren, in denen bei einer feuchten Atmosphäre die Lichtwirkung zur Polsterbildung vollkommen ausgereicht hätte. Da aber der Mangel an Fruktifikation fast stets das Schwarzwerden der Aepfel nach sich zieht, kann also indirekt auch ein allzugeringer Feuchtigkeitsgrad der Luft die „Schwarzfäule“ der Aepfel mitbedingen. Die Wirkung dieses Faktors scheint mir vorwiegend darauf zu beruhen, daß Feuchtigkeit durch Erweiterung der Micellarinterstitien die Härte der Cuticula vermindert und dadurch den Durchbruch der Konidienpolsteranlagen erleichtert.

In ähnlicher Weise ist der schon früher erwähnte Fall einer Beanspruchung höherer Lichtintensität zum Fruktifizieren auf Aepfel gegenüber der Sporenbildung auf Nährgelatine zu erklären. Bei Lichtmangel oder geringer Lichtintensität erlangen die in die Luft ragenden Hyphen unter den gewöhnlichen Umständen (saures Substrat und 19—22° C), wie ich feststellen konnte, einen relativ geringen Querschnitt. Die Sporenträger bei Licht zeigen einen Durchmesser von etwa 7—10 $\mu$, während die Lufthyphen bei Dunkelmycel nur etwa 3—6 $\mu$ Querschnitt erlangen. Dieser Einfluß der mangelhaften Belichtung wird sich sehr wahrscheinlich auch schon bei den Fruktifikationsanlagen bemerkbar machen, deren Druckkraft auf die Schale dadurch erheblich beeinträchtigt würde. Es ist auch leicht begreiflich, daß, je dicker und derber die Cuticula ist, um so schwerer die Hyphen nach außen zu dringen vermögen; um so mehr wird bei gleicher Lichtintensität die Polsterbildung gehemmt werden. Die Retardierung des Querschnittes der Lufthyphen bei Dunkelwachstum können wir wohl als eine Etiolementserscheinung ansprechen.

Eine ähnliche Beobachtung finden wir bei Gräntz[1]), der feststellte, daß die Fruchtträger von Pilobolus microsporus im Dunkeln einen viel geringeren Querschnitt erlangen, als die im Licht gewachsenen.

Bei Aepfeln dringen bei unterdrückter Fruktifikation zahlreiche Hyphen zwischen die Zellen der Schalen ein und bilden hier und unterhalb der Cuticula ein sklerotienartiges Lager, das bis 1 mm dick wird. Wir stoßen hier aber auf die Frage, welcher Reiz führt das Mycel gerade zum Durchwachsen der äußersten Zellschichten der Frucht, der Epidermis? Darauf erhalten wir durch den nachstehenden Versuch Antwort. Mehrere Aepfel wurden zur Hälfte mit Wachs überstrichen und dann sowohl auf der nicht bedeckten, wie auch der gewachsten Seite geimpft und dunkel gelegt. In der Folge zeigte sich, daß die nichtbehandelte Hälfte schwarzfaul wurde, während die Schale des gewachsten Apfelteiles das gewöhnliche Kolorit Sclerotinia-fauler Aepfel zeigte: die Schwarzfärbung der Schale unterblieb hier vollkommen. Diese Erscheinung findet ihren

1) Gräntz, Fr., Ueber den Einfluß des Lichtes auf die Entwickelung einiger Pilze. Diss. Leipzig, 1898. p. 18.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:41 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Grund einesteils in dem Unterbleiben der epidermalen Sklerotienbildung, anderenteils, und zwar primär, in dem Mangel an Sauerstoff. Daß der Sauerstoff bei der Schwarzfärbung als bewirkendes Agens angesehen werden muß, geht auch daraus hervor, daß, wenn man die Schale eines soeben geimpften Apfels dicht mit Nadelstichen durchlöchert, sie punktet, und den Apfel durch Feuchtlegen vor zu großer Wasserverdunstung schützt, daß dann bei Dunkellagerung die Schwarzfärbung fast unmittelbar mit fortschreitender Fäulnis erfolgt. Man kann in dieser Weise innerhalb einiger Tage einen Apfel „schwarzfaul" machen, während es sonst oft einige Wochen dauert. Die Schwarzfärbung ist überhaupt nur deshalb an die Schale gebunden, weil diese dem Sauerstoff der Luft am ehesten zugänglich ist. Schneidet man einen Monilia-faulen Apfel auf und läßt ihn einige Zeit liegen, so nimmt allmählich auch das Fruchtmark eine mehr oder weniger schwarze Farbe an. Mit sterilem Messer wurde unter einer sterilen Glocke ein Apfel in Stücke geschnitten und diese, nachdem sie mit Sclerotinia-Sporen geimpft waren, in vorher steril gemachte, feuchte Watte gewickelt und in eine gedeckte Schale gelegt, die in einer wenig belichteten Ecke des Laboratoriums aufgestellt wurde. Nach 10 Tagen ergab die Revision, daß sämtliche Apfelstückchen durch und durch schwarzfaul waren. Bei den in diffusem Lichte schwarzfaul werdenden Früchten können wir häufig zunächst die Bildung dunkler Ringe auf der Schale wahrnehmen, die hervorgerufen werden durch die in die Schale und unter die Cuticula eindringenden und sich da ausbreitenden Fruchtanlagen.

Welcher Art der ausgeschiedene Farbstoff ist, konnte ich bis jetzt noch nicht feststellen, es scheint mir aber, als ob ein Enzym als Oxydase dabei tätig sei, denn geimpfte Aepfel, die im Dunkeln in einem Thermostaten bei 36—38° C lagerten, zeigten die Schwarzfärbung nicht, desgleichen blieb sie bei einem Apfel aus, der während der Fäulnis öfters Kältegraden unter 0 ausgesetzt war. Die Vermutung, daß die Tyrosinase bei der Verfärbung wirksam sei, fand ich nicht bestätigt, wenigstens bleibt ein Filtrat von in der Reibschale unter Zusatz von destilliertem Wasser zerriebenen, schwarzfaulen Apfelschalen, wie auch von auf Nährgelatine gezüchteten Thallomen bei Zusatz von Tyrosin ohne Reaktion.

Was nun endlich die Tatsache anbelangt, daß Aepfel, auf denen der Pilz regelmäßig fruktifiziert, keine oder nur selten Schwarzfärbung der Schale zeigen, so liegt diese von vornherein etwas befremdliche Erscheinung in dem Umstande begründet, daß einmal das Sauerstoffbedürfnis des Pilzes durch die in die Luft ragenden Fruktifikationspolster in hinreichender Weise befriedigt ist, der Pilz deshalb weniger zu einer Ausbreitung in der Schale angereizt wird; zum anderen aber schrumpft die Schale und der äußere Teil des Fruchtfleisches infolge starker Wasserverdunstung durch die durchbrochene Epidermis und Cuticula sehr bald stark ein, und das Mycel breitet sich in tieferen Schichten der Frucht aus. Man kann durch ein einfaches Experiment diese Ansicht beweisend stützen. Wenn man die eine Hälfte eines Apfels mit einer Nadel punktet, die andere nicht, den Apfel dann einige Tage in ein warmes, trockenes Zimmer legt und dann, nachdem die präparierte Apfelhälfte bereits anfängt zu schrumpfen, beide Seiten des Apfels impft, so wird bei Dunkel-Trockenlagerung der Frucht nur die nicht behandelte Seite schwarzfaul werden, während die andere fault, ohne daß äußerlich an der Schale die typische Schwarzfärbung eintritt. Legt man jedoch einen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gepunkteten Apfel, den man sofort bei noch turgescenter Schale geimpft hat, unter sonst gleichen Bedingungen in einen feuchten Raum, dann folgt die Schwarzfärbung der Schale fast unmittelbar der fortschreitenden Fäulnis. Hier färbt sich dann aber nicht nur die Schale, sondern auch noch die direkt unterhalb derselben lagernde Fruchtfleischzone schwarz. Ebenso verhält es sich mit polsterbedeckten Aepfeln, denn wir können sehr wohl die Wirkung des Durchbruchs der Fruchtpolster mit den durch Nadelstichen hervorgerufenen Oeffnungen in der Schale vergleichen. Ist die Witterung anhaltend trocken, so schrumpfen die mit Fruchtpolster bedeckten Aepfel ohne jegliche Schwärzung der Schale sehr bald zu den bekannten Mumien ein, während bei langanhaltender feuchter Witterung dieselben allmählich das Aussehen der schwarzfaulen Früchte erhalten. Der letztere Fall tritt infolge der feuchteren Witterung mehr im Spätherbst ein.

Für die Praxis ergeben meine Untersuchungen einige nicht ganz unwichtige Folgerungen. Wir haben gesehen, daß Dunkelheit und niedere Temperatur (5—6° C) das Fruktifizieren der Sclerotinia auf Aepfeln vollkommen verhindern. Die Beachtung dieser Tatsachen ist aber von hoher Bedeutung für die Verhinderung der Ausbreitung der Sclerotinia-Fäule bei Lagerfrüchten, denn eine mit Sporen bedeckte Frucht vermag durch Vermittelung eines leichten Luftzuges Hunderte von anderen Früchten anzustecken, denn die Schale des Lagerobstes besitzt meist genügende Eingangspforten für die keimenden Sporen. Die schon vor dem Einlagern infizierten Früchte aber faulen schon in den ersten Wochen und müssen dann ausgelesen werden, um nicht durch Anlagerung andere anzustecken. Um letzteres zu vermeiden, muß man darauf achten, daß die Aepfel nicht in mehreren Lagen aufgeschichtet werden, und daß der Feuchtigkeitsgrad im Lagerhaus kein zu hoher wird. Die Empirie hat übrigens die genannten Faktoren schon lange als diejenigen erkannt, die für die Haltbarkeit des Lagerobstes, allerdings auch noch aus anderen Gründen als die von mir hier ins Auge gefaßten, von ausschlaggebender Bedeutung sind. Fruktifizierende sclerotiniafaule Aepfel sind deshalb auf dem Lager gemeinhin ziemlich selten, häufiger allerdings die „schwarzfaulen" Früchte, eine Tatsache, die unter Berücksichtigung der bei Lagerobst meist obwaltenden Verhältnissen mit meinen Untersuchungen in gutem Einklang steht. Anders ist es allerdings bei der Penicillium-Fäule, denn dieser Pilz vermag auch im Dunkeln seine Fruktifikationsorgane auszubilden.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Sclerotinia Mespili und Sclerotinia Ariae.

Von **H. C. Schellenberg,** Zürich.

Mit 4 Tafeln.

## I. Ueber Sclerotinia Mespili.

(Mit Tafel I und II.)

Eine ähnliche Erscheinung wie die Sklerotienkrankheit der Quitte findet sich an einzelnen Orten auf Mespilus germanica L. Zum ersten Male fand ich die ausgesprochen mumifizierten Früchte in einem Garten in Puschlav, einem südlichen Alpentale, im Jahre 1904. Noch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in demselben Jahre habe ich auf der Insel Mainau mumifizierte Früchte gesammelt, die bei der mikroskopischen Prüfung Sklerotien zeigten. Im Frühjahr 1905 führte mich der Weg wieder durch das Puschlav; in Brusio fand ich alsdann in mehreren Gärten die Blätter der Mespilus-Bäume schlaff herunterhängend, doch noch ohne Konidienlager. Die Hoffnung, daß sich der Pilz bald zur Konidienbildung anschicken werde, veranlaßte mich, etwas mehr Material nach Hause zu nehmen und den Pilz weiterzukultivieren. In der Tat gelang es mir bald die Konidienrasen zu erhalten, und später hat mir ein Freund, der in Ingenieurdiensten in Brusio verblieb, auch die befallenen Blätter mit Konidienrasen zugesandt.

Nachdem bereits die Untersuchung der mumifizierten Früchte mir die Zugehörigkeit des Pilzes zu einer Sclerotinia wahrscheinlich gemacht hatte, habe ich nicht versäumt, die gesammelten mumifizierten Früchte auszulegen, um daraus eventuell das Apothecium des Pilzes zu erzielen. Diese Kulturen brachten hingegen nicht das gewünschte Resultat. Die anfangs August 1904 gesammelten Früchte brachten mir im Jahre 1905 keine Apothecien, und in diesem Jahre besuchte ich das Puschlav viel zu spät, um keimende Sklerotien zu finden. Im Frühjahr 1906 bekam ich dagegen aus einzelnen Sklerotien die Becherfrüchte. Damit hatte ich den ganzen Entwickelungsgang dieses interessanten Pilzes festgestellt. Zugleich zeigt aber dieser Kulturversuch, daß die mumifizierten Früchte wenigstens 2 Jahre in der Erde liegen bevor sie auskeimen; ein Verhältnis, das sich ja auch bei den meisten anderen Sklerotinien vorfindet.

Bereits in einer früheren Mitteilung[1]) habe ich für Sclerotinia Cydoniae Sch. angegeben, daß dieser Pilz nicht Mespilus germanica befällt. Die folgenden Untersuchungen zeigen, daß die Sclerotinia Mespili in manchen morphologischen Verhältnissen verschieden von der Sclerotinia Cydoniae ist. Sie bestätigen die Ansicht, daß Sclerotinia Cydoniae eine spezifische Krankheit der Quitte, die Sclerotinia Mespili dagegen eine davon verschiedene Krankheit, die nur spezifisch der Mispel eigen ist, verursacht. Ich kann heute nur bestätigen, was ich damals gesehen hatte. An Orten, wo nur die Quittenkrankheit vorkommt, bleiben die Mispelbäume völlig gesund, selbst wenn die beiden Bäume nebeneinander stehen. Das ist in Zürich der Fall, wo ich Gelegenheit hatte, mehrerer solcher Beispiele zu beobachten und auch im Tessin und Puschlav.

Die Sclerotinia Mespili findet sich nach meinen Wahrnehmungen in den südlichen Alpentälern, wo ich sie im Puschlav gefunden habe; dann habe ich sie dieses Frühjahr bei Lugano in einem Obstgarten, ferner am Monte Bré und am Fuß des Generoso beobachtet[2]). Ferner fand ich sie auf der Insel Mainau im Bodensee und nach brieflicher Mitteilung von Prof. Dr. J. Behrens soll diese Krankheit sich auch dem Rheine entlang bis Geisenheim vorfinden. Sie wird gewiß bei weiteren Nachforschungen sich noch in weiterer Verbreitung zeigen.

Aus den mumifizierten Früchten treten die Apothecien des Pilzes je nach Witterung Mitte bis Ende April hervor. Das erste bemerkte

1) Schellenberg, H. C., Ueber die Sklerotienkrankheit der Quitte. (Ber. d. d. bot. Ges. 1899.)

2) Mespilus germanica ist in den Laubwäldern des südlichen Tessins häufig wild anzutreffen. Siehe: A. Bettelini, Flora legnosa del Sotto-ceneri. Zürich (A. Raustein) 1905.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ich am 14. April in meinen Kulturen in Zürich, während die Sklerotien der Quitte bereits am 4. April keimten, und zwar unter den gleichen äußeren Kulturbedingungen. Aus einer mumifizierten Frucht entwickeln sich nur wenige Apothecien. Die meisten Früchte bekamen nur 1—2; 2 Exemplare entwickelten 3 und nur eines bekam 4 Becherfrüchte. Der Ort, wo die Apothecien hervorbrechen, scheint keine bestimmte vorgebildete Stelle zu sein. Sie treten manchmal an dem scheibenförmigen Butzen, manchmal an irgend einer Stelle des Umfanges hervor (Fig. 1, Taf. I). Das Apothecium ist außen von blaßbrauner Farbe, die Scheibe selbst ist mehr rosaweißlich und erreicht 6—8 mm Durchmesser. Besondere Haare treten weder am Stiel noch an der Wandung der Becherfrucht auf. Wenn aus dem Sclerotium sich ein Apothecium bildet, so tritt die Ablage als kleiner fleischiger Höcker aus der Frucht heraus. Diese wird gestielt und das knopfförmige Ende breitet sich nach und nach zur Glockenform aus. In den späteren Stadien breitet sich die Glocke mehr becherförmig aus, ohne daß aber die Ränder zurückgeschlagen werden. Vor dem Zerfall zerreißt der Rand des Becherchens unregelmäßig.

In der anatomischen Struktur zeigt das Becherchen die gleichen Verhältnisse wie die der übrigen Sklerotinien. Die Schlauchschicht ist ungemein stark entwickelt; sie mißt 170—180 $\mu$. Die übrigen Teile des Becherchens sind von stark fleischiger Struktur, aus locker geflochtenen Fäden bestehend; nur die äußere Wand besteht aus etwas dichter geflochtenen Hyphen. Das Becherchen ist somit mit dickerer Wand versehen als die nächstverwandten Arten, wie Sclerotinia Cydoniae, Aucupariae, Padi. Sie mißt 1—1,5 mm.

Die Asci sind schlauchförmig 160—180 $\mu$ lang und nur 8—12 $\mu$ breit mit breit abgerundeter Spitze versehen (Fig. 5, Taf. I). An der Spitze ist der feine Porus nur bei günstiger Belichtung sichtbar. Mit wässeriger Jodlösung färbt sich die Ascus-Spitze blau. In den Asci liegen die 8 Sporen einseitig schräg hintereinander. Die Sporen sind farblos ellipsoidisch bis eiförmig, manchmal an den beiden Polen mit kleinen Spitzen versehen (Fig. 7, Taf. I). Sie messen 12—15 $\mu$ in der Länge, auf 9—11 $\mu$ in der Breite. Sie gehören somit zu den größten Formen unter den Früchte zerstörenden Sklerotinien und sind verschieden von den Ascosporen der nächst verwandten Sclerotinia Cydoniae und Padi.

Die Paraphysen sind gleich lang, wie die Asci 160—180 $\mu$, fädig nur 2—4 $\mu$ breit und am Ende kaum angeschwollen (Fig. 6, Taf. I).

Mit den Ascosporen konnte ich nur wenige Keimungsversuche anstellen. Im Wasser schreiten sie zur Konidienbildung (Fig. 8, Taf. I), indem die Spore gewöhnlich an beiden zugespitzten diese kleinen kugeligen Sporen erzeugt (Fig. 8, Taf. I). Diese messen 2,5—3,5 $\mu$ im Durchmesser und besitzen eine derbe Membran. In zuckerhaltigen Flüssigkeiten keimt die Spore mit Keimschlauchbildung (Fig. 9a, Taf. I). Der Keimschlauch tritt gewöhnlich an dem einen Pole hervor. Die Keimschläuche entwickeln sich rasch und zeigen die Eigenschaft, leicht miteinander zu kopulieren.

Wird ein Keimling aus der Konfitürenkultur in reines Wasser zurückgebracht, so tritt bereits nach einem Tage die Konidienbildung ein (Fig. 9b, Taf. I). Das Wachstum des Keimschlauches wird eingestellt und an verschiedenen Orten, doch nie an den alten Sporen, kommen die derbwandigen Konidien hervor.

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Infektion der Ascosporen an den Mispelbäumen geschieht bald nach dem Knospenausbruch. An abgeschnittenen Partieen der jungen Epidermis ist das Eindringen der Keimschläuche leicht zu verfolgen (Fig. 10, Taf. I). Es ist besonders der junge Trieb, der ergriffen wird, dann werden aber auch die Blätter leicht befallen. Der braune Flecken verbreitet sich besonders entlang der größeren Nerven. Wie bei der Quittenkrankheit hängen die befallenen jungen Triebe schlaff herunter. So lange die Luft feucht ist, schreitet die Ausbreitung der Flecken rasch vorwärts; so bald aber trockene Witterung eintritt, steht die Krankheit in dem einmal ergriffenen Zweige fast still. Der Wasserverlust der einmal abgetöteten Zellen hemmt dann das weitere Wachstum der Pilzfäden.

Die Konidienlager brechen auf dem schwarzen Blatte und Stengelteilen unregelmäßig hervor. Am Blatte finden sie sich auf der Oberfläche meist entlang der Nerven und sind von bläulich-grauer Farbe (Fig. 11, Taf. II). Die Zeit von der Infektion bis zur Bildung der ersten Konidienlager beträgt 6—8 Tage.

Die Pilzmycelien wachsen im Blatt in der Hauptsache im Schwammparenchym. Sie durchbohren selten die Wände und lösen die Mittellamelle auf. Recht auffällig zeigt sich die bei allen Sklerotinien beobachtete Tatsache, daß die Pilzfäden nur in den bereits gebräunten Zellen wachsen. Die Abtötung der Zellen schreitet den Pilzfäden stets voraus, was nur durch die Annahme erklärt werden kann, daß ein abgesondertes Ferment die Zellen abtötet, bevor der Pilzfaden in sie eindringt. Bei der Infektion der jungen Triebe im Frühjahr stirbt der ganze Trieb bis zum alten Holz gewöhnlich rasch ab und der verwelkte Trieb hängt schlaff herunter. Die Gefäßbündel in den Blättern sowie der Holzteil im Stengel widerstehen der Abtötung etwas länger und die Verfärbung der lebenden Zellen tritt dort erst 3—4 Tage nachher auf, nachdem auf dem gleichen Querschnitte das Parenchym getötet wurde.

Wenn die Infektion später in der Blüte durch die Narben stattgefunden hat, so tötet der Pilz gewöhnlich nur den Blütenstiel neben der jungen Frucht. In seltenen Fällen beobachtet man, daß der ganze diesjährige Trieb getötet wird, während bei Infektion vor der Blüte regelmäßig der ganze junge Trieb abstirbt.

Schickt sich der Pilz zur Chlamydosporenbildung an, so wachsen seine Fäden aus dem Schwammparenchym unter die Cuticula der Blattoberseite. Dort wird zwischen den Epidermiszellen und der zugehörigen Cuticula ein kleines Lager von blasenartig aufgetriebenen Hyphen gebildet (Fig. 12, Taf. II).

An einzelnen Stellen wird die Cuticula zerrissen und es bilden sich sofort die Sporenketten. Während bei Sclerotinia, Cydoniae, Aucupariae und anderen an der Basis des Sporenlagers ein mauerförmig septiertes mehrschichtiges Hyphengeflecht gebildet wird, unterbleibt diese Bildung hier stets. Immer war nur ein Pilzfaden unter der Cuticula vertreten und wo er sich zur Bildung mehrerer Seitenzweige anschickt, entsteht das Konidienlager (Fig. 12, Taf. II).

Diese in die Luft hinausragenden Hyphen zeigen ein rasches Wachstum unter gleichzeitiger perlschnurartiger Einschnürung. Diese Konidienketten haben genau dieselbe Struktur, wie sie Woronin[1]) für

1) Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der Vaccinienbeeren. (Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg. Série 7. T. XXXVI. 1888.

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die Heidelbeer-Sklerotinien beschrieben hat. Der Disjunktor zwischen den einzelnen Sporen wird kräftig ausgebildet und mißt 1,5—2 $\mu$. In späteren Stadien beobachtet man die Trennung der einzelnen Sporen. Sie hängen dann kettenförmig oft nur mit den Disjunktoren zusammen (Fig. 13, Taf. II). Die einzelnen Sporen runden sich nach der Lostrennung ab; sie sind fast kugelig. An den beiden Polen wölben sich nach der Lostrennung die Membranpartieen etwas vor. Der Inhalt der Spore ist mit großen Vakuolen versehen und läßt zahlreiche Glykogenkörner erkennen.

Die Chlamydosporen messen 15—18—20 $\mu$. Diese Sporen gehören somit zu den größten, die bei Sklerotinien beobachtet worden sind.

Mit diesen Chlamydosporen habe ich eine Reihe von Kulturversuchen ausgeführt. In Wasser schreiten die meisten Sporen zu lebhafter Konidienbildung, nur bei ganz wenigen tritt die Bildung eines Keimschlauches ein, der dann in diesem Falle auch nur kurz bleibt. Die Konidienbildung ist bei dieser Species eine recht lebhafte. Sie tritt zwar vorzugsweise an den beiden Polen ein, aber auch an jeder beliebigen anderen Stelle treten diese Konidien hervor (Fig. 20, Taf. II).

An einzelnen Sporen habe ich bis 10 und 12 Konidien gezählt. Manchmal kommt es vor, daß die Konidien in Ketten, 2 oder 3 hintereinander, gebildet werden.

Die Konidien selbst sind kugelig mit dicker Membran und sehr kleinem Lumen. Sie messen 2—3 $\mu$ im Durchmesser. Ihre Keimung konnte ich hingegen nicht beobachten.

Wird die Chlamydospore auf Nährgelatine oder in eine Nährlösung gebracht, so keimt sie regelmäßig mit einem starken Keimschlauch aus. Gewöhnlich tritt der Keimschlauch an dem einen Pol heraus (Fig. 15, Taf. II). Auf zuckerhaltigen Nährböden entwickelt sich das Mycel lebhaft. Die Fäden bilden weiße Watten, verflechten und anastomosieren lebhaft miteinander. Ich konnte bis zur Bildung pseudoparenchymatischer Krusten den Pilz auf Gelatineplatten züchten. Dem Mycel dieses Pilzes ist, wie den anderen Sklerotinien, in hohem Maße die Bildung zu Anastomosen eigen. Am Rande solcher Kulturen tritt auch die Bildung neuer Chlamydosporenketten ein (Fig. 14, Taf. II). Diese gleichen den an den Blättern und Zweigen entstehenden Ketten vollkommen.

Wird das Pilzmycel auf ein nährstoffarmes Substrat übertragen oder hat der Pilz die Nährlösung erschöpft, so beobachtet man auch an den Mycelfäden die Bildung der kleinen Konidien. Sie treten auf allen Seiten der Fäden unregelmäßig zerstreut auf, gewöhnlich an kleinen Seitenstielen (Fig. 2, Taf. II). Es ist als ob der Pilz vor dem Absterben rasch noch alles verfügbare Material zur Bildung dieser kleinen Sporen verwenden würde. Leider ist mir die Keimung dieser eigenartigen Konidien nicht geglückt.

Mit den Chlamydosporen habe ich auf Mispelbäumen einige Infektionsversuche ausgeführt. Es muß vor allem betont werden, daß die Infektion der Narben während der Blüte mit diesen Sporen sehr leicht gelingt. Ob man den Versuch im Freien bei mäßiger Feuchtigkeit anstellt, oder ob man an abgeschnittenen Zweigen im fast dunstgesättigten Raume anstellt, es zeigt sich immer, daß die Sporen auf den geschlechtsreifen Narben rasch keimen und nach 2—4 Tagen in den Fruchtknoten vorgedrungen sind. Dort wird der Fruchtknoten ganz vom Pilzgewebe durchsetzt und es beginnt sofort die Sklerotienbildung.

Infektionsversuche an jungen Blättern oder jungen Zweigen ge-

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

lingen nicht so leicht und auch nur dann, wenn man mit ganz jungem Material arbeitet.

An 3—4 cm langen, jungen Trieben gelang mir die Infektion 3mal, und zwar immer trat die erste verfärbte Stelle an der Basis eines ganz jungen Blättchens auf.

Die zuerst auftretenden Flecken sind von brauner Farbe, mit einem etwas helleren Rande versehen. In der feuchten Kammer vergrößern sich diese Blattflecken sehr rasch. Sie gehen durch den Blattstiel auf den jungen Zweig, der meist auch vollständig zerstört wurde.

An älteren Zweigen, die 12 cm und länger waren, gelang die Infektion nicht. Es zeigt das nur, was man auch bei der Beobachtung im Freien feststellen kann, daß nämlich ältere Teile, sowohl Stengel und Blätter, nicht mehr infiziert werden können.

Die Sporenabschnürung an den Blättern und Trieben dauert einige Zeit an und erfolgt bei feuchtem Wetter besonders lebhaft. Bei trockener Luft trocknen die erkrankten Blätter rasch ein und die Bildung neuer Sporenrasen unterbleibt. Die alten Rasen bilden keine neuen Sporen mehr. So kommt es, daß anhaltend feuchtes Wetter die Verbreitung der Krankheit enorm begünstigt, während trockene Witterung sie fast ganz zum Stillstand bringt.

Wie die Sclerotinia Cydoniae so zeigen auch diese Chlamydosporenrasen einen ausgesprochenen, starken Duft. Dieser Duft der beiden Arten stimmt, soweit mein Geruchsorgan es beurteilen läßt, überein. Die Uebertragung der Sporen auf die Narben geschieht denn auch, wie ich mich überzeugen konnte, nicht allein durch den Wind, sondern auch durch Insekten, die durch diesen Geruch angelockt werden und dann die Blüten besuchen. Es zeigt sich bei den eben befallenen jungen Früchten, daß der Ort der Infektion nicht allein die Narbe ist, sondern manchmal geht die Erkrankung vom Nektarium aus.

Bei dem feuchten Frühjahr von 1905 zeigte sich an den Mespilus-Bäumen die Fruchtinfektion außerordentlich stark. Fast alle jungen Früchte wurden von dem Pilz befallen und der Ertrag der Bäume soll trotz ihrer schönen Blüte nach Aussage der Besitzer ein ganz minimaler gewesen sein. Zur Bildung von Sklerotien schreitet der Pilz nur dann, wenn die Blüte, bevor sie vom Pilz befallen wurde, bereits befruchtet war und die junge Frucht zu schwellen begann. Greift der Pilz die Blüte im Knospenstadium an, oder im Stadium der ersten Entfaltung der Blumenblätter, so bildet sich kein Sclerotium. Der so befallene Blütentrieb welkt ab und bildet bei genügender Luftfeuchtigkeit Konidienlager selbst an der Außenfläche des Kelches. Ist die Infektion der Blüte nach ihrer Befruchtung erfolgt, so bildet sich die infizierte Frucht, an der aber keine Konidienlager auftreten.

Bereits Woronin[1]) hat auf diese interessanten Beziehungen der Sklerotienbildung zur Befruchtung der Blüten aufmerksam gemacht. Diese Beziehungen zeigen sich auch ausgesprochen bei der Mispel und der Quitte und man ist gezwungen, anzunehmen, daß die Saftzuleitung zur jungen Frucht von entscheidendem Einfluß auf die Ausbildung des Sclerotiums ist.

Die Infektion befruchteter Blüten durch die Chlamydosporen gelingt sehr leicht. Im hohlgeschliffenen Objektträger zeigen die keimenden Chlamydosporen ausgezeichneten Chemotropismus gegen Narben, die man

1) l. c.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in die Kulturen legt. Strahlenförmig neigen sich alle Keimschläuche gegen das Narbenköpfchen. In der Narbenflüssigkeit bemerkt man zahlreiche Verwachsungen der Fäden. Säet man auf frische Blüten in die Narbe die Chlamydosporen aus, so beginnt bereits nach 6 Stunden das Narbenköpfchen braun zu werden und bereits nach 3 Stunden konnte ich gekeimte Sporen finden. In dem Maße, wie der Pilz sich entwickelt, werden die Griffel braun von der Narbe gegen den Fruchtknoten. Bereits nach 30 Stunden ist bei genügender Luftfeuchtigkeit der Griffel bis zu den Samenanlagen braun und die Pilzfäden sind schon in den Eianlagen zu finden. Die Pilzschläuche folgen dabei dem Griffelkanal und gelangen auf diese Weise in den Fruchtknoten. Manche Pilzschläuche dringen in die Eianlagen ein und zerstören diese zuerst; andere wenden sich direckt dem Fruchtfleisch zu und verbreiten sich im Fruchtfleisch besonders in starker Weise. Die Pilzfäden dringen bis unter die Epidermis der jungen Frucht vor, durchbrechen diese aber nicht und bilden keine Chlamydosporenlager. Die junge Frucht mumifiziert, d. h. sie wird in ein Sclerotium umgewandelt. Diese Pilzfrucht behält die Form der jungen Frucht und ist je nach dem Entwickelungsstadium, in dem die Frucht befallen wurde, von etwas verschiedenem Aussehen. Sind es die jüngsten Stadien nach der Befruchtung, so ist die mumifizierte Frucht scheibenförmig ausgebreitet, in der Partie des Fruchtfleisches stark geschrumpft und klein und das eigentliche sklerotische Gewebe ist nur sehr schwach entwickelt. Die meisten mumifizierten Früchte besitzen die Größe eines Pferdezahnmaiskornes bis zur Größe eines Samens von Vicia faba. Bei diesen ist das Slerotium gut entwickelt, die Fruchtscheibe flach und noch mit den Resten der Griffel, Staubgefäße und Kelchzipfel versehen. Außen ist die mumifizierte Frucht mit einem dichten Haarkleid versehen. Seltener trifft man Früchte von der Größe eines kleinen Apfels, die vom Pilz befallen sind und da kann es als Ausnahme vorkommen, daß nur ein Teil der Frucht vom Pilz zerstört wurde und der andere Teil infolge der Zerstörung des Fruchttriebes ohne den Pilz eingetrocknet ist.

Auch bei der Mispel wird ein Teil des Fruchtstieles abgetötet. Beobachtet man solche Bäume im Juli und August, so findet man unter der sklerifizierten Frucht gewöhnlich mehrere gelbe Blätter, jedoch ohne jede Spur eines Konidienrasens. Auch die mikroskopische Untersuchung dieser Blätter gibt ein negatives Resultat. Es handelt sich um Vergiftungserscheinungen des jungen Sprosses. Da rückwärts von der jungen Frucht der Stiel ein Stück weit abgetötet wird, so werden indirekt auch die an diesem Stück angewachsenen Blätter in Mitleidenschaft gezogen. Durch die Vergiftung des Triebes werden diese Blätter nachträglich von der Wasserzufuhr abgeschnitten und sie trocknen ein. Gleichzeitig findet aber eine Gelbfärbung statt, was darauf hindeutet, daß ein Teil von dem Gift, das der Pilz absondert, mit dem Saftstrom in das Blatt hineingetragen wird.

Diese gelb gewordenen Blätter fallen dann im Herbst vorzeitig ab. Die mumifizierten Früchte bleiben dagegen am Baume meist bis zum folgenden Jahre und werden nach und nach durch den Wind heruntergerüttelt.

Wenn die mumifizierten Früchte im Boden lagern, so fällt die Oberhaut mit den Haaren nach einiger Zeit ab. Ebenso beobachtet man das Abfallen einer Schicht auf der Griffelseite. Dadurch werden die alten Blütenreste entfernt. Es bleibt dann nur noch das in ein Sclerotium

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verwandelte Fruchtfleisch übrig, schwarz aussehend und einige Furchen zeigend, von Kegelform (Fig. 2 u. 3). Ebenso fällt der nicht sklerifizierte Teil des Fruchtstieles weg.

Die Sklerotienbildung im Fruchtfleisch weicht etwas ab von dem Typus der Sklerotienbildung bei Sorbus und Cydonia. Nachdem die Pilzfäden durch die Narben in den Griffel und Fruchtknoten eingedrungen sind, bilden sie sich im Fruchtfleisch stärker aus. Es kommt aber nicht zur Bildung von eigentlichen stromaartigen Lagern, wie sie sich im Sclerotium der Quitte zeigen, sondern die einzelnen Mycelfäden umschließen recht zahlreiche Inseln von abgestorbenem Gewebe in ziemlich gleichmäßiger Art und Weise (Fig. 4, Taf. I). Diese Gewebereste sind meist nur von ein oder zwei Mycelfäden voneinander getrennt. Bei schwachen Vergrößerungen erscheint darum dieses Gewebe homogen, scheinbar nur aus abgestorbenen Fruchtteilen bestehend. Erst die starke Vergrößerung zeigt dagegen den sklerotischen Charakter des Gewebes (Fig. 4, Tafel I). Das ganze Fruchtfleisch erscheint in ziemlich gleichartiger Weise in das Sklerotium umgewandelt. Gegen die Peripherie sind die stark verdickten Hyphen etwas dichter verflochten als im Zentrum. Die Stelle des Fruchtgehäuses zeigt bei der mumifizierten Frucht fast gar keine Pilzfäden. Sie zerfällt auch leicht, während die Zone des Fruchtfleisches hart und zäher ist. Alle Hyphen der sklerifizierten Frucht sind mit stark verdickten Wänden versehen. Diese Pilzcellulose ist eine Reservecellulose, denn sie wird aufgelöst, wenn der Pilz zur Bildung seiner Ascusfruktifikation schreitet.

Nach diesen anatomischen Verhältnissen ist das Sclerotium der Sclerotinia Mespili ein Körper von wenig Differenzierung; es ist eine Stromatinia im Sinne von Boudier, und zwar in ganz ausgesprochenem Maße. Dieses Sclerotium lehnt sich ganz an die Verhältnisse der Gattung Ciboria an, wo man an Stelle des eigentlichen Sclerotiums nur ein lockeres Hyphengeflecht vorfindet, aus dem das gleich organisierte Apothecium entspringt. Wenn ich trotzdem den Pilz auf der Mispel zur Gattung Sclerotinia stelle, so geschieht es, weil die Verhältnisse im Apothecium und bei der Konidienbildung bis in die Details mit den Früchte zerstörenden Sklerotinien übereinstimmen.

Die Verhältnisse der Sklerotienbildung scheinen überhaupt für die Abgrenzung der Gattungen mehr von sekundärer Bedeutung zu sein, denn sie sind in hohem Maße durch die jeweiligen Verhältnisse der Fruchtbildung beeinflußt. Wollte man eine Reihe der Entwickelung der Sklerotien innerhalb der Gattung Sclerotinia aufstellen, so müßte die Sclerotium Mespili ganz an den Anfang gestellt werden, denn von allen mir bekannt gewordenen Formen besitzt keine ein Sclerotium von so geringer Differenzierung. Dagegen zeigen die Verhältnisse der Chlamydosporenbildung, daß man es mit einer hochentwickelten Form zu tun hat. Der Trennungsmechanismus der Sporen ist so deutlich wie nur möglich ausgeprägt; die Fähigkeit der Konidienbildung aus den Chlamydosporen ist außerordentlich entwickelt, ebenso die Fähigkeit der Hyphen, miteinander zu verwachsen. Auch die Spezialisation des Pilzes ist, wie mir scheint, eine weitgehende, denn der Pilz geht nicht auf die nahe verwandte Quitte über und wie es scheint auch nicht auf Crataegns, Pirus malus und communis und Prunus Padus, avium und cerasus.

In den morphologischen Verhältnissen lehnt sich der Pilz eng an Sclerotinia Cydoniae an, ebenso wie in den biologischen Verhält-

13*

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nissen. Es ist gleichsam nur eine Form mit großen Askosporen, längeren Asci und größeren Chlamydosporen als diese. Zum Vergleiche lasse ich die Maße für die nächst verwandten Formen hier folgen:

| | Scl. Mespili | Cydoniae | Crataegi | Padi |
|---|---|---|---|---|
| Asci, Länge | 160—180 | 140 | 170 | — |
| „ Breite | 10—12 | 10 | 10 | — |
| Ascosporen | 12—14 : 8—10 | 12 : 7 | 5 : 6 | 13 : 6 |
| Chlamydosporen | 15—18—20 | 8—12 | 11 : 13 | 12 : 15—17 |

Daraus geht wie aus dem Infektionsversuch klar und deutlich hervor, daß wir es hier mit einer guten Art zu tun haben, die verschieden ist von Sclerotinia Cydoniae und Crataegi.

Von Passerini ist auf der Quitte eine Ovularia necans beschrieben worden, deren Zugehörigkeit zu Sclerotinia Cydoniae unzweifelhaft ist. In der Exsikkatensammlung von G. Briosi und F. Cavara[1]) findet sich auf Mespilus germanica ein Pilz, der ebenfalls als Ovularia necans Pars. bezeichnet ist. Dieser ist bereits von Woronin[2]) als Chlamydosporenform einer Sclerotinia angesprochen worden, indem er die typische Struktur dieser Sporen aufweist.

Leider war es mir nicht möglich, das Exsikkat von Cavara zu untersuchen. Nach der vorliegenden Untersuchung dürfte dieser Pilz unzweifelhaft die Konidienform der Sclerotinia Mespili sein, der verschieden von dem Pilz auf der Quitte ist.

## II. Ueber Sclerotinia Ariae.

(Mit Taf. III und IV.)

Vor 4 Jahren erhielt ich von Prof. Dr. E. Fischer in Bern einen Zweig von Sorbus Aria Cr., dessen Blüten und Blätter unzweifelhaft von einer Sclerotinia befallen waren. Die Blätter waren gänzlich geschwärzt und zeigten an einzelnen Stellen ihrer Oberseite abgestreifte Lager von Konidienrasen. Die einzelnen Sporen waren kugelig und glichen in der Form den von Woronin beschriebenen Sporen der Sclerotinia Aucupariae, nur mit dem Unterschiede, daß sie etwas kleiner waren. Auch die Früchte waren teilweise zerstört. Ihre Narben waren schwarz und zeigten das typische Bild der Narbeninfektion einer Sclerotinia.

Ich vermutete damals, daß ich Sclerotinia Aucupariae Wor. auf der Sorbus Aria vor mir habe. Da aber das Material für eine weitere Untersuchung nicht besonders günstig war, suchte ich nach weiteren Standorten für diese Erscheinung. Im Jahre 1903 gelang es mir, auf einem Hügel, auf dem die Kirche von Wassen im Reußtale sich befindet, einen sehr günstigen Standort für diesen Pilz aufzufinden. Dieser Kirchberg von Wassen ist mit schönen Matten bedeckt, wo einzelne steinige Stellen, sowie Grenzstrecken mit schönen, reichlich fruktifizierenden Exemplaren von Sorbus Aria und Aucuparia besetzt sind. Es zeigte sich nun die merkwürdige Erscheinung, daß Sorbus Aria fast regelmäßig von dem Pilz ergriffen war; Sorbus Aucuparia hingegen keine Spur einer Infektion zeigte. Im Jahre 1903 zu Pfingsten war der Pilz auf den Blättern reichlich vertreten, auch die Blüten-

1) Briosi und Cavara, I fungi parassitici delle piante coltivate od utile. Fasc. 5. No. 110.

2) Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. (Mém. de l'Acad. St. Pétersbourg. T. II. Sér. 8. 1895. p. 21.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

infektion war gut zu verfolgen, doch die mumifizierten Früchte am Boden konnte ich wegen der vorgerückten Jahreszeit nicht mit den Apothecien auffinden. Im folgenden Jahre 1904 besuchte ich früher, am 28. Mai, den gleichen Standort und fand nun reichlich die ausgewachsenen Sklerotien mit den zahlreichen Apothecien vertreten. Diese waren recht deutlich verschieden von der von Woronin auf Sorbus Aucuparia gefundenen Sclerotinia Aucupariae, so daß ich es mit einer neuen guten Species zu tun hatte und nicht, wie ich es anfänglich dachte, mit der gleichen S. Aucupariae, die nur auf Sorbus Aria etwas kleinere Chlamydosporen bildet.

Woronin[1]) hat seine Sclerotinia Aucupariae in Finnland (Leistila) beobachtet; in Deutschland ist sie aus dem Harz und aus Thüringen bekannt geworden. Trotz vieler Nachforschungen war es mir bis jetzt nicht möglich, diesen Pilz im Gebiete der schweizerischen Voralpen nachzuweisen, wenn auch der Wirt, Sorbus Aucuparia, gerade in diesem Gebiete recht häufig in den Waldungen vertreten ist.

Bei den verschiedenen Exkursionen habe ich hingegen den Pilz auf Sorbus Aria verschiedentlich gefunden: so im Wallis im Einfischtal bei Vissoye, im Tessin bei Faido, im Kanton Graubünden oberhalb Sais. Der Pilz scheint demnach in dem Gebiet der Alpen und Voralpen ziemlich verbreitet zu sein. Es zeigte sich auch überall, daß er nicht auf Sorbus Aucuparia übergeht. Die Verschiedenheit des Pilzes von Sorbus Aria ist deshalb morphologisch wie auch durch Verbreitung und physiologische Eigenschaften von Scl. Aucupariae erwiesen. Ich bezeichne den Pilz Sclerotinia Ariae.

Die mumifizierten Früchte von Sorbus Aria sind klein, meist nur 2—4 mm lang und etwa 2 mm dick, aber sehr hart. Reste von Kelch, Staubfäden und Griffel finden sich an den meisten Exemplaren; ebenso sind die meisten Früchte mit einem Fruchtstiel versehen. Manchmal ist die ganze Blütenrispe abgefallen und mit den mumifizierten Früchten besetzt. Diese sind etwas kleiner als die von Woronin für Sorbus Aucuparia beschriebenen mumifizierten Früchte.

Im Frühjahr, wenn die Frühlingstemperatur die Bäume zum Austreiben bringt, keimen auch die Sklerotien. In Wassen bei 900 m Meereshöhe waren im Jahre 1904 am 28. Mai die Sklerotien in schöner Keimung. In Zürich bei 450 m Meereshöhe trat in meinen Kulturen die Keimung im Freien am 12. April ein.

Aus einem Sclerotium brechen eine größere Anzahl kleiner, knopfförmig angeschwollener Stielchen hervor, die sich rasch zu kleinen Apothecien entwickeln (Fig. 1, Taf. III). Ihre Anzahl an einer mumifizierten Frucht beträgt meistens 8—14, dagegen findet man häufig Exemplare, die bis 20 und mehr kleine Apothecien erzeugen. In diesem Punkte unterscheidet sich die Sclerotinia Ariae scharf von der S. Aucupariae, die nur 1—2, selten bis 4 Apothecien auf einer mumifizierten Frucht entwickelt.

Das Apothecium ist hell fleischfarbig bis etwas gelblich, außen glatt. Der Stiel ist ohne Rhizoiden; er wird bis 1 cm lang bei einer Dicke von $1/2$ mm. Anfänglich ist das Becherchen knopfförmig, es verbreitet sich dann und nimmt Becherform an, ohne daß seine Ränder gegen das Ende der Entwickelung umgeschlagen werden. Sie messen 2—3 mm im

1) Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. (Mém. de l'Acad. St. Pétersbourg. T. VIII. Fasc. 2. 1895.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Durchmesser; größer als 4 mm habe ich keine gefunden. Sie gehören somit zu den kleinsten Formen unter den die Früchte zerstörenden Sklerotinien. Entsprechend den geringen Dimensionen der Becherfrucht sind auch die Größen der Asci und Sporen. Die Ascusschicht tapeziert gleichmäßig den inneren Teil des Bechers aus und mißt 65 $\mu$. Das fleischige Grundgewebe zeigt durchaus gleichartige Struktur, nur hier und da finden sich einige morgensternförmige Kristalle von oxalsaurem Kalk eingesprengt.

Die Asci selbst sind schlauchförmig und messen 60—65 $\mu$ in der Länge bei 6—8 $\mu$ Breite. Am oberen Ende breit abgestumpft, mit einem feinen Porus versehen (Fig. 7, Taf. III). Ihr Porus färbt sich mit Jodlösungen schwach blau. Die Sporen liegen schräg einreihig und sind in Achtzahl vorhanden. Sie sind spindelförmig an beiden Enden zugespitzt (Fig. 9, Taf. III), dreimal so lang wie breit, manchmal etwas gebogen und farblos. Sie messen 10—12 $\mu$ auf 3—4 $\mu$.

Die Paraphysen sind gleich lang wie die Asci, 3 mm, 3 $\mu$ dick, mit wenigen Querwänden versehen, ohne Verzweigung in der Ascusschicht und mit schwach angeschwollenen Enden (Fig. 8, Taf. III).

Die Sporen werden durch den Wechsel an Feuchtigkeit ausgeschleudert. In Wasser oder verdünnter Fruchtkonfiture ausgesät, keimen die Ascosporen gewöhnlich innerhalb 6 Stunden. Der Keimschlauch bricht meist an einem der spitzen Sporenenden hervor. Manchmal bilden sich zwei Keimschläuche, oder er kann auch seitlich aus der Spore heraustreten (Fig. 10 u. 11, Taf. III).

Während bei den meisten anderen Sklerotinien die Ascosporen in Wasser Konidien bilden, unterbleibt hier diese Erscheinung regelmäßig. Es treibt die Ascospore auch im Wasser regelmäßig einen Keimschlauch, der aber bald sein Wachstum einstellt und sich nicht weiterentwickelt und nicht zur Konidienbildung schreitet. In verdünnter Fruchtkonfitüre entwickeln sich die Keimschläuche der Ascosporen besser, geben lange Mycelfäden, die vielfach miteinander kopulieren. Aber auch dieses Mycel schreitet nicht zur Konidienbildung, wenn es in reines Wasser zurückgebracht wird.

Durch diese Eigenschaft unterscheidet sich Scl. Ariae von den anderen Sklerotinien und auch von Scl. Aucupariae. Offenbar ist die Fähigkeit der Konidienbildung stark zurückgetreten. Das gleiche wie die Kultur der Ascosporen zeigen auch die Kulturen der Chlamydosporen und der Mycelien, die aus ihnen hervorgegangen sind. Unter den verschiedenen Kulturen, die ich mit Chlamydosporen angesetzt habe, konnte ich nur ein paar vereinzelte Sporen finden, die Konidien bildeten (Fig. 18, Taf. IV). Aber auch dann war es nur eine Konidie, selten zwei, mehr konnte ich nie beobachten. Alle anderen Chlamydosporen keimten auch im Wasser mit Mycelfadenbildung aus. Auch bei der Uebertragung von Mycelstücken aus Nährlösungen in Wasser trat die Konidienbildung nicht ein, sondern die vorher lebhaft wachsenden Fäden stellten im Wasser ihr Wachstum ein.

Die Ascospore vermag sowohl das junge Blatt wie den Zweig im zarten Jugendstadium zu infizieren. Der Keimschlauch wählt dabei keine besondere Stelle, sondern dringt an der Zusammenfügung zweier Zellen ein (Fig. 12, Taf. III). Wie bei allen Infektionsversuchen, so zeigt sich auch bei der S. Ariae, daß nur junge, wachsende Teile von dem Pilz ergriffen werden. Sobald Blatt und Trieb älter geworden sind, gelingt die Infektion nicht mehr. An der Infektionsstelle ist nach 30 Stunden

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein kleiner, brauner Fleck zu beobachten, der sich rasch vergrößert. Nach 6—8 Tagen treten die ersten Chlamydosporenlager auf. Auf den Blättern verbreitet sich der Flecken längs der Nerven etwas rascher als im Parenchym und ebenso verbreitet sich der Flecken rascher gegen die Blattbasis als gegen die Blattspitze. Am Trieb bleibt der Flecken auf eine mehr oder weniger große Strecke beschränkt.

In dem Verlauf folgt das Mycel meistens den Intercellularräumen; man sieht, daß aber die Fäden auch hier und da einzelne Wände durchbohren. Damit hängt es wohl zusammen, daß in den Blättern das Mycel sich vorzugsweise im Schwammparenchym verbreitet, und im Pallisadengewebe sich weniger zeigt (Fig. 14, Taf. IV). Schickt sich der Pilz zur Bildung von Chlamydosporen an, so durchbricht das Mycel einzeln die obere Epidermis und verbreitet sich zwischen der Cuticula und der Epidermiszelle. Man sieht, daß das Mycel sich vermehrt, die einzelnen Fäden werden kräftiger und es bildet sich ein ganzes Lager dicht verflochtener Hyphen, die an einzelnen Stellen die Cuticula durchbohren und sofort zur Bildung der Chlamydosporen sich anschicken (Fig. 15, Taf. IV). Bei keiner anderen Species kommt es, so viel ich sehe, zur Bildung so mächtiger Pilzfädenlager unter der Cuticula. Manchmal ist dieser Belag des Pilzmycels mächtiger als das eigentliche Blatt und bildet ein mauerartiges Gewebe (Fig. 14, Taf. IV). Haben einzelne Fäden die Cuticula durchbrochen, so bilden sie sofort Chlamydosporen, indem die heraustretenden Fäden perlschnurartig sich einschnüren (Fig. 16, Taf. IV). Manchmal verzweigen sich die Sporenketten, meistens sind sie unverzweigt. Die Gliederung und Lostrennung der einzelnen Chlamydosporen erfolgt in der gleichen Weise, wie es Woronin[1]) für die Sklerotinien der Heidelbeeren in so vorzüglicher Weise angegeben hat. Der „Disjunktor" zwischen den einzelnen Sporen ist allerdings sehr klein, nur 1—1,5 $\mu$ lang. Wenn die Sporen sich trennen, so haben sie kugelige Gestalt, nur die beiden Pole wölben sich etwas vor. Manchmal hängen sie mit den Disjunktoren in langen Reihen aneinander. Ihre Membran ist glatt, farblos und im Inhalt lassen sich Glykogenkörner leicht nachweisen. Sie messen 8—9—10 $\mu$, gehören somit auch hier zu den kleinsten Formen und stimmen in Form und Größe mit den Chlamydosporen der S. Aucupariae Wor. nahezu überein, weshalb ich anfänglich den Pilz auch mit diesem identifizierte.

In Wasser und Nährlösungen keimen die Sporen rasch, bereits nach 4 Stunden, aus. In beiden Medien erzeugen sie Keimschläuche, nur mit dem Unterschiede, daß in der Nährlösung der Keimschlauch viel energischer wächst als im Wasser, wo er sein Wachstum bald einstellt. Die Keimschläuche treten regelmäßig seitlich an der Spore aus, am Aequator, wenn man die Längsachse als Polachse bezeichnet.

In der Kultur auf verdünnter Konfitüre zeigten die Mycelschläuche regelmäßig zahlreiche Vereinigungen. Auch wenn zwei oder mehrere Sporen nebeneinander liegen, tritt oft der Fall ein, daß sie miteinander kopulieren (Fig. 17, Taf. IV mit einem sehr kurzen Verbindungsschlauch). In Kulturen mit starker Mycelentwickelung treten die Kopulationen der einzelnen Fäden so häufig ein, daß man oft Stellen von pseudoparenchymatischem Gewebscharakter erhielt (Fig. 24, Taf. IV). Dann war es auch möglich, an einzelnen Randfäden die Bildung neuer Chlamydosporen zu beobachten. Eigentliche Lager hingegen konnte ich nirgends sehen.

1) Woronin, l. c.

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

An den Blättern entstehen die Chlamydosporenlager vorzugsweise längs der Nerven immer auf der Blattoberseite (Fig. 13, Taf. IV); aber Blattstiel und junger Zweig geben ebenfalls reichliche Sporenlager. In frischem Zustand besitzen diese Lager eine aschgraue Farbe. Mit dem Alter nehmen sie einen mehr gelblichen Ton an. Wie bei den anderen Sklerotinien entwickeln diese Sporenlager einen intensiven angenehmen Geruch nach Mandelsäure.

Diese Chlamydosporen werden auf die Narben übertragen und dabei spielen die Insekten gewiß eine bedeutende Rolle, die durch diesen Geruch angelockt werden. Bringt man in eine Objektträgerkultur keimender Chlamydosporen eine Narbe, so bemerkt man, daß alle Keimschläuche radial sich gegen das Narbenköpfchen richten und direkt auf dieses hinzuwachsen in ihrem Wachstum deutlich chemotropisch gelenkt werden. Das Narbenköpfchen übt diesen Reiz am intensivsten aus. Gibt man Teile des Griffels hinzu ohne die Narbe, so ist die Ablenkung sehr gering und bei Teilen der Fruchtknotenwand und jungen Blättern und Zweigen konnte ich gar keine Ablenkung der Pilzfäden beobachten.

Auf die Narben der Blüten verbracht, keimen die Chlamydosporen sehr rasch aus, die Keimschläuche kopulieren und wachsen durch den Griffelkanal hinunter zu dem Fruchtknoten (Fig. 19, Taf. IV). Die Narbe und der Griffel bräunen sich in dem Maße wie der Pilz eindringt und die Gewebe werden abgetötet, bevor die Mycelfäden in sie eindringen (Fig. 5, Taf. III).

Im Fruchtknoten zerstört das Mycel zuerst die Eianlagen. Man kann an günstigen Präparaten sehen, wie die Mycelfäden durch den Eimund in die Samenknospen eindringen. Von hier aus dringen sie in radialer Richtung in die Fruchtwand (Fig. 6, Taf. III) und bilden dort das Sclerotium. Auch in den Fruchtstiel dringen die Fäden ein und es kann dort auch zur Bildung kleiner Sklerotien kommen. Wenn zahlreiche Blüten einer Rispe infiziert werden, kann es auch vorkommen, daß die ganze Rispe abgetötet wird und der Stiel bis zur Basis getötet wird.

Die Bildung des Sclerotiums ist relativ rasch beendigt. Bereits 3 Wochen nach der Infektion ist die Frucht völlig erhärtet und das Pilzwachstum im Innern beendigt.

Die mumifizierte Frucht zeigt außen eine glatte Haut und die Reste der Narben und Staubgefäße. Sie erreicht meist nur eine Länge von 3—4 auf 2—3 mm Dicke.

Im anatomischen Baue zeigt sich das Sclerotium als ein weit differenziertes Gewebe. Außen bleibt die Epidermis der Frucht ziemlich gut erhalten, und daran schließen sich zwei oder drei Zellschichten, die nicht vom Mycel durchsetzt sind (Fig. 4, Taf. III). Das eigentliche sklerotiale Gewebe ist scharf gegen diese äußere Schicht des abgestorbenen Fruchtgewebes abgegrenzt. In dem sklerotialen Gewebe sind deutlich zwei Schichten zu unterscheiden (Fig. 2 u. 3, Taf. III). Die äußere (*a*) ist mit zahlreichen kleinen Inseln von einzelnen abgestorbenen Zellen durchsetzt, weitaus besteht aber die Hauptmasse aus den verdickten Pilzhyphen. Die innere Schicht (*b*) ist frei von den abgestorbenen Gewebeteilen, dagegen finden sich zahlreiche Kalkoxalatkristalle eingestreut. Gegen die Fruchtfächer ist eine Grenzschicht von etwas dunkler gefärbten Hyphen vertreten. Im Innern des Fruchtfaches finden sich dann die geschrumpften Reste des Kerngehäuses und der Samenanlagen (Fig. 2 u. 3, Taf. III). In diesen Teilen finden sich keine sklerotialen Gewebe. So sind die Fruchtfächer gleichsam von einem Pilzpanzer eingeschlossen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Sclerotium ist ein reines Pilzgewebe mit sehr wenig Einschlüssen von abgestorbenen Gewebezellen der jungen Frucht. Die getöteten Gewebereste werden gleichsam nach innen und außen geschoben, und das Sclerotium bildet einen dicken geschlossenen Ring, der durch eine oder mehrere Fruchtwände noch eine innere Verbindung erhält. Deshalb schließt dieses Sclerotium eng an die Sklerotien der Stengel in der anatomischen Struktur an, die ja unter Verdrängung der Gewebe des Wirtes ein reines sklerotiales Gewebe ausbilden.

Auch diese sklerifizierten Früchte liegen meist 2 Jahre am Boden, bevor sie auskeimen. Sie fallen mit dem Fruchtstiel ab. Auch in dem Parenchym des Fruchtstieles bilden sich manchmal kleine Sklerotien aus. Daß auch diese Sklerotien auskeimen und Apothecien erzeugen, habe ich an verschiedenen Exemplaren beobachtet.

Bei der Sorbus Aria kommt es hingegen nicht zum Absterben des einjährigen Triebes. Es unterbleibt das Gelbwerden der Blätter unter den Fruchtrispen, denn dieser Teil wird ja nicht vom Pilz geschädigt.

Fassen wir das Resultat der Untersuchung über Sclerotinia Ariae zusammen, so finden wir, daß dieser Pilz ganz den gleichen Entwickelungsgang, wie die Früchte zerstörenden Sklerotinien aufweist. Ihre nächst verwandte Form ist die Sclerotinia Aucupariae Wor. Es will mir scheinen, daß Sclerotinia Ariae nur die alpine Form von der Sclerotinia Aucupariae ist, die im Norden ihre Verbreitung besitzt. Beide Arten sind im Verbreitungsbezirk räumlich getrennt, aber auch morphologisch wie physiologisch gut geschiedene Formen.

Sclerotinia Ariae läßt sich nicht auf Sorbus Aucupariae übertragen. Die wichtigsten Unterscheidungsmerkmale sind folgende:

| | S. Ariae | S. Aucupariae (nach Woronin) |
|---|---|---|
| Das Sclerotium erzeugt Apothecien | 8—12—20 | 1—4 |
| Das Apothecium erreicht einen Durchmesser | 2—4 mm | 6—10 mm |
| Die Ascospore mißt | 10—12 μ | 11 μ |
| Die Asci messen | 60—65 μ | — |
| Die Konidienbildung ist | wenig ausgeprägt | gut ausgeprägt |
| Die Chlamydosporen messen | 8—9—10 μ | 9—12 : 7—9 μ |

Es ist darum Sclerotinia Ariae eine gute Species, die von der Sclerotinia Aucupariae zu trennen ist, mit ihr aber nahe verwandt ist.

Inwieweit, daß die Sclerotinia Ariae verwandt ist mit der Sclerotinia, die auf Sorbus Chamae mespilus sich findet, vermag ich nicht anzugeben. Wahrscheinlich stellt auch diese eine neue Form dar, indem wenigstens in der Struktur der Sklerotien keine Uebereinstimmung zu bemerken ist.

## Erklärung der Figuren.

### Tafel I.

### Sclerotinia Mespili.

Fig. 1. Ausgekeimte mumifizierte Früchte mit Apothecien. Vergr. $^1/_1$.

Fig. 2. Längsschnitt durch eine mumifizierte Frucht. *a* äußere lockere Zone ohne sklerotiales Gewebe. *b* innere derbere Zone mit sklerotialem Gewebe. Vergr. 3.

Fig. 3. Querschnitt durch die mumifizierte Frucht. *a* äußere lockere Zone ohne sklerotiales Gewebe. *b* innere derbere Zone mit sklerotialem Gewebe. Vergr. 3.

Fig. 4. Querschnitt durch den derben Teil der mumifizierten Frucht. Die Hyphen sind verdickt und in größeren Nestern beieinander; der übrige Teil besteht aus totem Fruchtgewebe. Vergr. 700.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 5. Reife Asci mit Sporen. Vergr. 700.

Fig. 6. Paraphysen aus einem gereiften Apothecium. Vergr. 700.

Fig. 7. Ausgeschleuderte Ascosporen. Die abgeworfene Hülle liegt neben der Spore. Vergr. 700.

Fig. 8. Ascosporen in Wasser gekeimt mit reichlicher Konidienbildung. Vergr. 700.

Fig. 9a. Ascosporen in Pflaumenkonfitüre gekeimt mit Keimschläuchen. Vergr. 700.

Fig. 9b. Die gleichen Keimlinge der Ascosporen in reines Wasser zurückversetzt, wobei die Keimschläuche Konidien gebildet haben. Vergr. 700.

Fig. 10. Junge Blattepidermis von Mespilus germanica. Die gekeimte Ascospore dringt an den Eckpunkten der Epidermiszellen ein. Vergr. 700.

## Tafel II.

### Sclerotinia Mespili.

Fig. 11. Zweig von Mespilus germanica mit Blütenknospe. Die Blätter sind verschiedentlich infiziert. Vergr. $^1/_2$.

Fig. 12. Blattquerschnitt durch ein Chlamydosporenlager. Vergr. 600.

Fig. 13. Chlamydosporenkette mit Disjunktoren. Vergr. 700.

Fig. 14. Chlamydosporenbildung an einer Hyphe in Kultur auf Pflaumenkonfitüre. Vergr. 600.

Fig. 15. Keimende Chlamydosporen in Pflaumenkonfitüre. Vergr. 700.

Fig. 16 und 17. Chlamydosporenkeimung auf Mespilus. — Narben auf dem Objektträger. Vergr. 600.

Fig. 18. Aelteres Stadium der Chlamydosporenkeimung auf Konfitüre. Vergr. 600.

Fig. 19. Die gleichen Keimlinge, wie in Fig. 18, aber nachher in Wasser zurückgebracht. Längs des Keimschlauches ist überall die Konidienbildung eingetreten. Vergr. 600.

Fig. 20. Keimung der Chlamydosporen in Wasser. Die Sporen schreiten direkt zur Konidienbildung. Vergr. 700.

Fig. 21. Stück eines älteren Mycels aus einer Konfitürenkultur, das in Wasser zurückgebracht wurde. Die Konidienbildung ist eingetreten. Vergr. 600.

## Tafel III.

### Sclerotinia Ariae.

Fig. 1. Mumifizierte Früchte gekeimt mit Apothecien. Vergr. 2.

Fig. 2. Längsschnitt durch eine mumifizierte Frucht. *a* äußere Schicht mit einzelnen Nestern von abgestorbenem Fruchtgewebe. *b* innere Schicht rein nur aus Pilzhyphen bestehend. Vergr. 3.

Fig. 3. Querschnitt durch eine mumifizierte Frucht. *a* äußere Schicht mit einzelnen Nestern von abgestorbenem Fruchtgewebe. *b* innere Schicht nur aus Pilzhyphen bestehend. Vergr. 3.

Fig. 4. Querschnitt durch das Sklerotium. *a* Fruchtepidermis. *b* zerstörtes Fruchtfleisch. *c* Pilzschicht reines Sklerotium. Vergr. 700.

Fig. 5. Längsschnitt durch eine Blüte. Durch einen Griffel ist die Infektion eingetreten. Vergr. 3.

Fig. 6. Partie aus der infizierten Blüte. Die Hyphen wachsen von der Eiknospe in das Fruchtfleisch hinaus. An den Stellen, wo die Hyphen eintreten, sind sie eingeschnürt. Vergr. 400.

Fig. 7. Reife Asci mit Sporen. Vergr. 700.

Fig. 8. Paraphysen aus einem reifen Apothecium. Vergr. 700.

Fig. 9. Ascosporen. Vergr. 700.

Fig. 10. Keimende Ascosporen in Konfitüre. Vergr. 700.

Fig. 11. Weiteres Stadium der Ascosporenkeimung in Konfitüre. Vergr. 700.

Fig. 12. Keimende Ascospore auf einem Epidermisstück des jungen Zweiges. Vergr. 700.

## Tafel IV.

### Sclerotinia Ariae.

Fig. 13. Zweig von Sorbus Aria mit frischer Infektion und Konidienlagern.

Fig. 14. Blattquerschnitt mit Chlamydosporenlagern. Vergr. 150.

Fig. 15. Einzelne Chlamydosporenlager stärker vergrößert. Unter der abgehobenen Cuticula befindet sich eine mächtig entwickelte Schicht von starken Mycelien. Vergr. 700.

Fig. 16. Einzelne Chlamydosporenkette von einem Blatt. Vergr. 700.

Fig. 17. Keimende Chlamydosporen in Konfitüre. Vergr. 700.

Fig. 18. Chlamydosporen mit Konidienabschnürung in Wasser. Vergr. 700.

Fig. 19. Aeltere Keimlinge der Chlamydosporen der Konfitüre. Vergr. 700.

Fig. 20. Keimung der Chlamydosporen auf Narben. Vergr. 700.

Fig. 21. Keimling zuerst in Konfitüre gezogen, nachher in Wasser zurückgebracht. Es ist nur schwache Konidienbildung eingetreten. Vergr. 700.

Fig. 22. Hyphengeflecht aus einer Konfitürenkultur. Vergr. 450.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen.

Von Prof. Dr. **Ed. Fischer,** Bern.

## 3. Aecidium Seseli Niessl auf Laserpitium Siler [1]).

Am Südabhange der Curfirsten (Schweiz) kommt auf Laserpitium Siler ein Aecidium vor, welches Winter [2]) mit dem auf Seseli glaucum lebenden Aecidium Seseli Niessl identifiziert hat. Nachdem nun Bubák [3]) für letzteres die Zugehörigkeit zu Uromyces graminis experimentell dargetan hatte, lag die Annahme nahe, daß das Aecidium des Laserpitium Siler ebenfalls zu diesem Uromyces gehöre, um so mehr als der letztere in der Schweiz auch bereits von mehreren Standorten bekannt war.

Im Mai 1905 hatte ich an der Straße, die von Merligen nach den Beatenhöhlen dem Thuner See entlang führt, prächtig entwickelte Aecidien auf Laserpitium Siler gesammelt. Als ich dann am 21. August dieselbe Stelle aufsuchte, fand ich die in der Umgebung auftretenden Melica ciliata reichlich mit den Teleutosporen des Uromyces graminis behaftet. Dieses Teleutosporenmaterial wurde in einem aufgehängten Tuchsäckchen überwintert und im Frühling 1906 zu einigen Infektionsversuchen verwendet.

Versuchsreihe I, eingeleitet am 24. April 1906. Teleutosporenbehaftete Melica-Blätter wurden auf zwei kleinere Pflanzen von Laserpitium Siler aufgelegt, die mir Herr Prof. Wilczek in Lausanne gütigst aus dem botanischen Garten in Pont de Nant zur Verfügung gestellt hatte. Ein gleichzeitig eingerichteter Kontrollversuch auf Objektträger zeigte am 26. April reichliche Bildung von Basidiosporen. Bei Revision des Versuchs am 4. Mai waren auf den Blättern der beiden Versuchspflanzen junge Pykniden sichtbar, namentlich ein Blatt war massenhaft damit besetzt. Am 12. Mai sah man um die Pyknidengruppen herum weißliche Höfe, auf denen als flache rötliche Pusteln Aecidienanfänge sichtbar waren; am 18. Mai zeigten sich einige derselben reif und offen. Es gehört somit in der Tat auch das auf Laserpitium Siler lebende Aecidium Seseli zu Uromyces graminis. Damit ist aber noch nicht gesagt, daß beide Pilze auch wirklich identisch seien. Um diese Frage zu lösen, wurden vier weitere Versuchsreihen ausgeführt:

Versuchsreihe II, eingeleitet am 8. Mai 1906. Das dazu verwendete Teleutosporenmaterial war gleicher Herkunft wie bei Versuchsreihe I. Dasselbe wurde aufgelegt auf

Laserpitium Siler von Pont de Nant.

Seseli montanum aus dem botanischen Garten in Bern. Dieses Seseli steht dem S. glaucum sehr nahe: Drude, der Bearbeiter der Umbelliferen in Engler und Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien, betrachtet letzteres sogar nur als Subspecies von S. montanum.

---

1) 1—2 siehe diese Zeitschrift. II. Abt. Bd. XV. 1905. p. 227 ff.

2) Pilze in Rabenhorsts Kryptogamenflora. Ed. 2. Bd. I. p. 265.

3) Diese Zeitschrift. II. Abt. Bd. XVI. 1906. p. 152. — Vorläufige Mitteilung in Annales Mykologici. Vol. II. 1904. p. 361.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein Kontrollversuch auf Objektträger zeigte am 9. Mai spärlich, am 10. Mai außerordentlich reichlich abgeworfene Basidiosporen. — Am 14. Mai revidierte ich den Versuch und fand auf Laserpitium Siler sehr zahlreiche Pykniden, zum Teil schon von honiggelber Farbe; dagegen ließ Seseli montanum auch bei späterer Kontrollierung am 18. und am 26. Mai keinerlei Erfolg der Infektion erkennen.

Versuchsreihe III, eingeleitet am 17. Mai 1906 mit gleichem Teleutosporenmaterial wie in den beiden vorangehenden Versuchsreihen. Als Versuchspflanzen wurden verwendet:

Seseli glaucum, eine junge Pflanze, die ich durch die Güte des Herrn Prof. Engler aus dem botanischen Garten zu Dahlem bei Berlin erhielt.

Laserpitium Siler von Pont de Nant.

Im gleichzeitig ausgeführten Kontrollversuch fand ich am folgenden Tage noch keine Basidiosporen, am 19. Mai aber waren solche in großer Zahl abgeworfen. Das Ergebnis der Infektion war folgendes: Auf Seseli glaucum traten weder Pykniden noch Aecidien auf, während auf Laserpitium Siler am 25. Mai ganz junge Pykniden beobachtet wurden, die sich bis zum 28. Mai stark vermehrt hatten.

Versuchsreihe IV, eingeleitet am 29. Mai 1906. Das Teleutosporenmaterial war wieder von gleicher Herkunft wie in den vorangehenden Reihen und wurde aufgelegt auf Seseli glaucum aus Dahlem und auf Laserpitium Siler von Pont de Nant. Ein gleichzeitig ausgeführter Kontrollversuch ergab erst am 2. Juni das Vorhandensein von Basidiosporen; auf die Ursachen dieses abnormen Verhaltens soll unten noch eingetreten werden. Bis zum 13. Juni zeigte keine der beiden Versuchspflanzen ein positives Infektionsresultat.

Versuchsreihe V, eingeleitet am 14. Juni. Teleutosporenmaterial wie in den früheren Reihen. Als Versuchspflanzen wurden verwendet: Seseli glaucum in zwei Töpfen und Laserpitium Siler in zwei Töpfen. Erstere und eines der beiden Laserpitium sind dieselben Pflanzen, welche schon in früheren Reihen gedient hatten. In einem gleichzeitig eingerichteten Kontrollversuch sind am 16. Juni reichliche Basidiosporen nachweisbar. Das Ergebnis dieser Reihe ist folgendes: Seseli glaucum bleibt gesund; kleine gelbliche Flecke, die auf einigen Fiedern bemerkt wurden, sind anderweitige Verfärbungen. Auf beiden Laserpitium Siler sind am 21. bezw. 26. Juni Pykniden sichtbar, an einer Pflanze starben die infizierten Blätter ab, an der anderen fand ich am 11. Juli reife Aecidien.

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß derjenige Uromyces graminis, welcher seine Aecidien auf Laserpitium Siler bildet, nicht identisch ist mit demjenigen, welcher auf Seseli glaucum übergeht. Nach Klebahns Vorgang bei der Nomenklatur solcher Formen könnte man also hier unterscheiden zwischen einem

Uromyces Seseli-graminis

und einem

Uromyces Laserpitii-graminis.

Es fragt sich nun noch, ob es sich dabei um zwei morphologisch differente oder um zwei biologische Arten handelt. Auf meine Bitte hin erhielt ich von Herrn Prof. Bubák Uredo- und Teleutosporen, welche er aus Seseli-Aecidien erzogen hatte, und Herr Prof. Hennings in Berlin übersandte mir aus dem dortigen Herbarium Niesslsche Original-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

exemplare des Aecidium Seseli auf Seseli glaucum zur Untersuchung. Beiden Herren spreche ich hierfür meinen herzlichen Dank aus. Bei Vergleichung dieser Materialien mit den Aecidien auf Laserpitium Siler und den zugehörigen Uredo- und Teleutosporen vom Thuner See konnte ich keinerlei greifbare Unterschiede feststellen und muß daher die oben unterschiedenen beiden Formen als biologische Arten betrachten.

Es mögen nun noch einige Beobachtungen angefügt werden, die sich bei meinen Versuchen mit Uromyces graminis nebenbei ergeben haben:

1) In den Basidien und Basidiosporen von Uromyces graminis ist der Zellinhalt farblos oder höchstens ganz blaß hellgelb, und in größerer Anhäufung makroskopisch betrachtet, erscheinen dementsprechend die Basidiosporen weiß. Die Pykniden sind anfänglich ebenfalls weißlich oder farblos durchscheinend, aber später nehmen sie honiggelbe Färbung an und zeigen auch bei mikroskopischer Untersuchung einen orangefarbenen Zellinhalt. Es ist also von der Zellinhaltsfärbung der einen Sporengeneration nicht ohne weiteres ein Schluß auf die Inhaltsfärbung der übrigen zu ziehen. Aehnliche Verhältnisse liegen übrigens auch bei anderen Arten vor: Aecidium Adenostylis hat orangefarbene Sporen, und dennoch sind die Basidien und Basidiosporen des zugehörigen Uromyces Veratri nach Tranzschels Beobachtung[1]) farblos.

2) Auffallend ist die kurze Inkubationsdauer bei der Infektion von Laserpitium Siler durch die Basidiosporen: In Versuchsreihe II wurden die teleutosporentragenden Melica-Blätter am 8. Mai gegen Abend auf Laserpitium aufgelegt. Am folgenden Morgen zeigte der Kontrollversuch auf Objektträger einige abgeworfene Basidiosporen. Es mögen also in der Nacht vom 8. auf den 9. Mai auch auf die Laserpitium-Blätter Basidiosporen ausgefallen sein. Am 14. Mai bemerkte ich Pykniden; aber da dieselben bereits gelb gefärbt waren, so ist anzunehmen, daß ihr erstes Auftreten schon auf den 13. Mai fällt, an welchem Tage der Versuch nicht kontrolliert worden war. Man käme so auf eine Inkubationsdauer von 4—5 Tagen, ein Fall, der unter den Uredineen wohl sonst nicht häufig vorkommen dürfte.

3) Eriksson[2]) hat für eine Anzahl von Aecidiosporen und Uredosporen dargetan, daß Abkühlung dieselben zur Keimung anregt. Eine Beobachtung, die ich bei Uromyces graminis gemacht habe, scheint dafür zu sprechen, daß auch bei Teleutosporen eine Abkühlung für das Eintreten der Keimung erforderlich sein kann: Bei meinen Versuchen wurden jeweils die vorher in einem Sacke aufgehängten teleutosporentragenden Melica-Blätter morgens in Wasser gelegt und tagüber darin eingeweicht. Gegen Abend legte ich die Blätter nach leichtem Abtrocknen mit Filtrierpapier in einer feuchten Kammer auf Objektträger. Am folgenden Morgen waren dann entweder gar keine oder nur wenige Basidiosporen gebildet, dagegen zeigten sich am zweiten Morgen solche in Menge auf dem Objektträger ausgeworfen. Wahrscheinlich erfolgt ihre Bildung in der Nacht. — Eine Ausnahme von diesem ganz regelmäßigen Verlauf des Versuches bildet nun die Reihe IV. Dieselbe war am 29. Mai eingeleitet worden, aber am 31. Mai waren noch keine Basidiosporen aufzu-

---

1) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. (Arbeiten aus dem botan. Museum der Kais. Akademie der Wissensch. zu St. Petersburg. 1905. p. 64 ff.)

2) Ueber die Förderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte. (Diese Zeitschrift. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 557 ff.)

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

finden, ebenso auch nicht am 1. Juni. Erst am 2. Juni fand ich solche in ziemlicher Zahl. Man könnte nun zunächst diese Verzögerung dadurch erklären, daß im Laufe des Sommers die Keimfähigkeit der Teleutosporen nach und nach zurückgeht. Allein dieser Annahme widerspricht der Umstand, daß die später (am 14. Juni) eingeleitete Reihe V wieder normalen Verlauf zeigte. Dagegen bietet sich nach Erikssons oben angeführten Beobachtungen für das abweichende Verhalten von Reihe IV eine andere plausible Erklärung: in den Tagen vom 29. Mai bis 1. Juni herrschte ein warmer Wind, und infolgedessen trat auch Nachts nur eine schwache Abkühlung ein; diesem Umstande möchte ich nun das Unterbleiben der Keimung zuschreiben. Letztere trat erst ein, als in der Nacht vom 1. auf den 2. Juni ein starkes Sinken der Temperatur erfolgte. Laut gütiger Mitteilung von Herrn Prof. Forster wurden auf dem tellurischen Observatorium in Bern an den in Rede stehenden Tagen folgende Temperatur-Maxima und -Minima registriert:

| | Maximum | Minimum |
|---|---|---|
| 29. Mai | 27,9 | 13,8 |
| 30. Mai | 26,8 | 13,3 |
| 31. Mai | 29,8 | 18,6 |
| 1. Juni | 21,7 | 6,4 |
| 2. Juni | 13,3 | 7,0 |

Im Zimmer, in denen die Versuche ausgeführt wurden, waren natürlich die Schwankungen weniger ausgesprochen.

### 4. Nochmals Puccinia Liliacearum Duby.

Aus meinen letztjährigen Versuchen war hervorgegangen, daß diejenige Puccinia Liliacearum, welche Ornithogalum bewohnt, nur auf Ornithogalum-Arten übertragen werden kann, aber nicht auf Muscari und Bellevalia. Innerhalb der Gattung Ornithogalum schien der Parasit in so fern eine Auswahl zu treffen, als Ornithogalum nutans kein positives Infektionsergebnis nachweisen ließ, doch war dieses Resultat nicht ganz einwandfrei. Es wurde daher zur Prüfung dieser Frage eine neue Versuchsreihe eingeleitet:

Am 19. April 1905 sammelte ich an der gleichen Stelle wie im Vorjahre reichliches Teleutosporenmaterial von Puccinia Liliacearum und vermengte dasselbe Tags darauf wieder in einem offenen Kistchen mit Erde, um teleutosporenführende Komposterde zu erhalten. In dieselbe wurden am 13. Oktober eingepflanzt:

Ornithogalum umbellatum,
" nutans,
Scilla bifolia,
Bellevalia romana,

sämtlich bezogen von Haage und Schmidt in Erfurt.

Am 17. April 1906 kontrollierte ich diese Versuchspflanzen. Das Ergebnis war folgendes:

Ornithogalum umbellatum: massenhaft Pykniden und junge Teleutosporenlager.

Ornithogalum nutans: trotz sorgfältiger Durchsicht ließen sich weder Pykniden noch Teleutosporen auffinden.

Bellevalia romana und Scilla bifolia blieben völlig pilzfrei.

Es wird also in der Tat Ornithogalum nutans von der auf O. umbellatum lebenden Puccinia Liliacearum nicht befallen. Dieses Ergebnis, in Verbindung mit den übrigen negativen

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultaten auf Muscari und Bellevalia, die in der Literatur ebenso wie Ornithogalum nutans als Nährpflanzen der P. Liliacearum aufgezählt werden, zeigt also, daß in dieser Species eine Spezialisation vorliegt. Immerhin blieb aber die Frage offen, ob nicht zwischen diesen verschiedenen Formen auch kleine, bisher unbeachtet gebliebene morphologische Unterschiede bestehen.

Um darüber Klarheit zu erhalten, wandte ich mich an verschiedene größere Museen mit der Bitte um Proben von Puccinia Liliacearum auf verschiedenen Wirten und ich möchte an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen den Herren Prof. P. Hennings in Berlin, Prof. von Wettstein und Herrn Handel-Mazetti in Wien, sowie Herrn P. Hariot in Paris, durch deren Güte ich Exemplare auf folgenden Nährpflanzen mit dem Pilze auf Ornithogalum umbellatum vergleichen konnte:

- auf Ornithogalum nutans, aus dem botanischen Garten in Berlin und in Thümen Fungi austriaci No. 389;
- auf Ornithogalum tenuifolium, gesammelt von E. Kabát;
- auf Ornithogalum pyrenaicum, Laibach und Haute Savoie;
- auf Endymion nutans (= Hyacinthus non scriptus), Umgebung von Paris;
- auf Hyacinthus ramosus, Courtrai, Belgien.

In allen diesen Fällen erwiesen sich zwar die Sporen, besonders auch in Bezug auf das Verhältnis von Länge und Durchmesser, sehr vielgestaltig, aber irgend welche durchgreifende Unterschiede zwischen den Pilzen auf den verschiedenen Wirten waren nicht zu konstatieren. Es ist somit die Form auf Ornithogalum umbellatum, welche auch auf O. pyrenaicum und O. narbonense (letztjährige Versuche) und wohl noch auf weitere Arten übergeht, als eine biologische Art von der auf Ornithogalum nutans und wohl auch von den auf den anderen Gattungen lebenden Formen zu unterscheiden.

Wenn soeben gesagt wurde, es seien zwischen den verschiedenen untersuchten Sporen von Puccinia Liliacearum keine durchgreifenden Unterschiede festgestellt worden, so muß hier aber doch eine Einschränkung angebracht werden, und diese bezieht sich auf den Pilz auf Ornithogalum pyrenaicum. Die Probe von Laibach unterschied sich nämlich von allen anderen dadurch, daß neben den normalen zweizelligen Sporen in großer Zahl einzellige auftraten; es mögen dieselben ungefähr so zahlreich gewesen sein wie die zweizelligen. Diese Erscheinung war um so auffälliger, als ich letztes Jahr durch Experiment die Identität der auf O. pyrenaicum lebenden Form mit derjenigen auf O. umbellatum nachgewiesen hatte. Dies veranlaßte mich, das Verhalten unseres Pilzes auf O. pyrenaicum noch an weiteren Proben zu prüfen. Dabei stellte sich folgendes heraus: Exemplare aus Savoyen (Herb. Paris) und solche aus der Umgebung von Genf, die ich der Güte des Herrn Dr. Eug. Mayor verdanke, zeigten ausschließlich zweizellige oder höchstens ganz ausnahmsweise einzellige Sporen. Anders lagen die Dinge auf meinen Versuchspflanzen, welche im Jahre 1905 Teleutosporen getragen hatten; das Kistchen, welches dieselben enthielt, war den Winter über in der Orangerie gestanden. Im Frühjahr 1906 konstatierte ich nun, daß auf einigen Pflanzen wieder Sporenlager aufgetreten waren. Eine kleine Gruppe von solchen befand sich auch auf O. pyrenaicum, und die Untersuchung derselben am 3. Mai 1906 zeigte nun, daß hier neben den normalen zweizelligen Sporen zwar

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht einzellige, aber auffallend zahlreiche drei- und vierzellige auftraten. Zählungen ergaben auf 296 zweizellige Sporen 23 drei- oder vierzellige. Auch auf den O. umbellatum des gleichen Kistchens zeigten sich solche mehrzellige Sporen, aber nur ganz vereinzelt. Dagegen ergab eine spätere Untersuchung der Sporen von demselben Blatte des O. pyrenaicum (am 22. Mai) wieder nur ganz spärliche dreizellige Sporen. Es ist nun eine längst bekannte Tatsache, daß bei den Uredineen häufig in der Zellenzahl der Sporen Anomalieen auftreten, auch kennt man ja einige Arten, welche geradezu die Mitte halten zwischen Puccinia und Uromyces, indem sie ungefähr gleich viele ein- und zweizellige Sporen produzieren, hierher gehört z. B. Puccinia Cesatii und Puccinia Porri, aber bis jetzt mußte man diese Erscheinung als eine mehr zufällige betrachten. Unsere Beobachtungen scheinen nun darauf hinzuweisen, daß P. Liliacearum auf gewissen Nährpflanzen (Ornithogalum pyrenaicum) und vielleicht auch unter gewissen äußeren Verhältnissen mehr zur Variabilität neigt als auf anderen Nährpflanzen. Indes wird es nötig sein, diese Schlußfolgerung noch durch viel zahlreichere Beobachtungen zu bestätigen. Sollte dies der Fall sein, so läge hier ein Fall vor, in welchem eine Mutation — denn als solche muß man doch wohl das Auftreten ein- oder mehrzelliger Formen ansehen — durch äußere Einflüsse ausgelöst wird.

---

*Nachdruck verboten.*

# Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien.

[Aus dem Botanischen Institut Bern.]

Von cand. phil. **Walther Krieg**, Bern.

(Vorläufige Mitteilung.)

In Fortsetzung der Infektionsversuche vom letzten Sommer mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien, über die seiner Zeit in dieser Zeitschrift kurz berichtet worden ist[1]), konnten durch die diesjährigen Versuche weitere Beiträge zur Klärung der biologischen Verhältnisse dieser Pilzgruppe geliefert werden. Die wichtigeren Resultate seien im folgenden mitgeteilt.

## 1. Aecidium Ficariae.

Infektionsversuche mit diesem aus der Umgebung Berns und aus dem Kiental stammenden Aecidium, ausgeführt an Keimlingen von Rumex- und Poa-Arten, sowie an Dactylis, wodurch Fremdinfektionen vermieden wurden, erzeugten einzig auf Poa trivialis und palustris Uredo- und Teleutosporenentwickelung, dagegen nicht auf Rumex, Poa nemoralis und pratensis.

Das Aecidium Ficariae in der Umgebung Berns und im Kiental gehört demnach zu Uromyces Poae Rabh. und stellt eine biologische Rasse dar, die nur auf Poa trivialis und palustris wächst. Es ist also verschieden vom Aecidium,

---

1) Krieg, W., Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 258 und 259.)

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

mit dem Bubák im Sommer 1905 experimentierte[1]), das auf Poa pratensis sich weiter entwickelt, nicht aber Poa palustris zu infizieren vermag.

### 2. Aecidium auf Ranunculus repens.

Mit Aecidiosporen auf Ran. repens erzielte ich Uredo auf Poa trivialis, nicht auf Dactylis und auf Poa pratensis. Dieses Aecidium auf Ran. repens gehört also in den Entwickelungskreis eines Uromyces vom Typus des Uromyces Poae.

### 3. Aecidium auf Ranunculus bulbosus.

Mehrere Versuche, Dactylis, Poa- und Rumex-Arten zu infizieren, hatten Erfolg auf Dactylis. Der zu Uromyces Dactylidis gehörende Pilz ist demnach nicht identisch mit dem Aecidium auf Ran. bulbosus, mit dem Bubák auf Festuca ovina Uredo- und Teleutosporen erzeugte[1]).

### 4. Aecidium auf Ranunculus silvaticus.

Die auf Poa-Arten und auf Dactylis zerstäubten Aecidiosporen gelangten einzig auf Dactylis zur Entwickelung. Die Teleutosporen sind vom Typus des Uromyces Dactylidis.

### 5. Aecidium punctatum.

Das Resultat der Infektion mit Aecid. punct. auf Anemone coronaria weicht nicht wesentlich von den Ergebnissen Tranzschels ab, der einen Infektionserfolg auf Amygdalus communis, Prunus spinosa und divaricata verzeichnet[2]). Von den Prunus-Arten, die ich infizierte, wurden Prunus domestica, Armeniaca und spinosa vom Pilze befallen.

Die Teleutosporen gehören der Puccinia Pruni-spinosae, forma discolor, an.

## Versuche mit Teleutosporen.

Mit Teleutosporen auf Dactylis (Urom. Dactylidis) verschiedener Standorte erzielte ich sehr spärlich Pykniden und Aecidien auf a) Ran. bulbosus, b) repens, c) platanifolius und glacialis. Eine Rückinfektion auf Dactylis-Keimlinge mit Aecidiosporen auf Ran. glacialis war erfolgreich.

Eine Wiederholung des Experimentes mit dem Aecidium auf Ran. platanifolius bestätigte die letztjährigen Ergebnisse.

---

1) Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen. III. Bericht (1904 und 1905). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)

2) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. 1905.



Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum.

[Aus dem Botanischen Institut Bern.]
Von **Wilhelm Müller,** cand. phil.

(Vorläufige Mitteilung.)

## I. Mit Euphorbiaceen bewohnenden Melampsoren.

Nach den bisherigen Publikationen zerfällt diese Uredineengruppe in 3 Arten: Melampsora Helioscopiae (Pers.) Winter auf einer ganzen Reihe von Euphorbia-Species lebend; Mel. Euphorbiae dulcis Otth. (Syn. Mel. congregata Dietel) auf E. dulcis und carniolica, und Mel. Gelmi Bres. n. sp. auf E. dendroides.

Meine, auf Anregung von Herrn Prof. Ed. Fischer an reichem Herbarmaterial wie auch an frischen Sporenlagern gemachten Untersuchungen ließen aber eine weitere Specialisation erwarten, die durch diesjährige Infektionsversuche teilweise bestätigt wurde.

Von der Mel. Helioscopiae lösen sich als selbständige Unterarten ab:

### 1. Melampsora Helioscopiae s. str.

Mehrmals wiederholte Infektionsversuche mit Uredo auf Euphorbia helioscopia zeigten, dass dieser Pilz nur E. helioscopia befällt und keine der vielen anderen ihm zugeschriebenen Wirtspflanzen.

### 2. Melampsora Euphorbiae Pepli.

Teleutosporen, von E. Peplus herstammend, infizierten nur E. Peplus. Es traten sehr reichlich Uredo-Lager auf. Eine mit diesem Sporenmaterial gemachte Versuchsreihe bestätigte und ergänzte dies Resultat, indem der Pilz nur auf E. Peplus überging.

### 3. Melampsora Euphorbiae exiguae.

Teleutosporen auf E. exigua, auf die Blätter verschiedener Euphorbia-Arten gebracht, gaben nur auf E. exigua einen Erfolg, und zwar entstand an einem Stengel ein großes Caeoma-Lager. Dessen Sporen befielen wiederum allein diese Species.

### 4. Melampsora Euphorbiae strictae.

Mit Uredosporen auf E. stricta erzielte ich eine regelmäßige Infektion von E. stricta und eine spärlichere von E. platyphyllos. 12 weitere Euphorbia-Arten wurden nicht befallen. Dieses Resultat hatte ich infolge der Uebereinstimmung in der Sporengröße und dem nahen Verwandtschaftsgrad der beiden Wirtspflanzen erwartet.

### 5. Melampsora Euphorbiae Gerardianae.

Versuche mit Uredosporen der auf E. Gerardiana lebenden Melampsora ergaben sichere Resultate auf E. Gerardiana und E. falcata.

Während bei den vier ersten Unterarten keine charakteristischen morphologischen Unterschiede konstatiert werden konnten, sondert sich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Melampsora Euphorbiae Gerardianae durch ihre Größenverhältnisse, namentlich der Teleutosporen, deutlich von diesen ab und ist daher als neue gute Art zu betrachten.

## II. Der Uredo-Wirt zum Aecidium Euphorbiae Gerardianae nov. spec. ad interim (Ed. Fischer).

Die Vermutung Ed. Fischers[1]), das Aecidium auf Euphorbia Gerardiana gehöre höchstwahrscheinlich einer heteröcischen Art vom Typus des Uromyces Astragali an, hat sich insoweit bestätigt, daß es sich hier wirklich um eine Heteröcie handelt. Eine Infektion mit Aecidiosporen auf verschiedene Papillonaceen ergab nämlich reichliche Uredo-Lager auf Ononis rotundifolia. Ononis repens blieb dagegen gänzlich pilzfrei. Da die Versuchspflanze leider vor Bildung der Teleutosporen zu Grunde ging, war eine genauere Bestimmung des Pilzes noch nicht möglich.

## III. Der Entwickelungsgang des Endophyllum Euphorbiae-silvaticae (D. C.) Winter.

Versuche, die jungen Blätter der Euphorbia Amygdaloides mit den Aecidien-ähnlich entstehenden Teleutosporen dieses Endophyllum zu infizieren, blieben erfolglos. Dagegen zeigten im folgenden Frühjahr zwei neu entstandene junge Sprosse blattober- und unterseits zahlreiche Pykniden, die sich nach einiger Zeit zurückbildeten. Daraus geht hervor, daß die Infektion wahrscheinlich an den Rhizomknospen erfolgt. Das Mycel wächst mit der sich zum Sproß streckenden Knospe empor und bildet im ersten Jahr Pykniden (in seltenen Fällen, wie Beobachtungen im Freien zeigen, spärliche „Aecidien“, jedoch ohne Deformation des Triebes). Während des Sommers erstarkt, wächst es im nächsten Frühling in den neu entstehenden Gipfeltrieb, ihn auf die charakteristische Art deformierend und fruktifiziert hier mit sofort keimenden Teleutosporen.

## IV. Spezialisation der Melampsora Hypericorum (D. C.) Schroeter.

Saccardo[2]) gibt als Nährpflanze dieses Rostpilzes nicht weniger als 11 verschiedene Hypericum-Arten an. Klebahn[3]) hält jedoch eine Specialisation für höchst wahrscheinlich und eine von mir gemachte Infektion mit Caeoma-Sporen auf Hyp. montanum hatte nur Erfolg auf Hyp. montanum. Alle übrigen Arten blieben gesund. Es scheint also auch hier eine Kollektivbenennung vorzuliegen, wovon wir vorläufig die Melampsora Hyperici montani als erste Subspecies abtrennen können.

Bern, im Juli 1906.

---

1) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. p. 531.
2) Saccardo: Sylloge fungorum.
3) Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. Heft 2.)



Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

# Contribution à l'étude biologique et quelques Puccinies sur Labiées.

Par **Paul Cruchet.**

Avec 5 figures, 5 diagrammes et 1 planche.

## Introduction.

L'ordre des Urédinées, tel qu'il est présenté par la systématique actuelle, renferme encore un grand nombre d'espèces, que, de petites différences morphologiques, ou l'habitat sur des hôtes divers, permettraient de subdiviser, comme cela a déjà été fait pour plusieurs d'entre elles. Ce travail difficile et peu sûr, demande à être aidé par l'étude biologique au moyen de cultures et d'essais d'infection.

Désireux d'examiner de près une telle question, je reçus de M. le Dr. prof. Ed. Fischer le conseil d'étudier quelques Puccinies sur Labiées et surtout Puccinia Menthae.

Les matériaux à ma disposition m'ont permis d'étudier Puccinia Menthae Pers., telle qu'elle est représentée dans notre région, puis: Aecidium Prunellae Winter (Pucc. Brunellarum-Moliniae nov. spec.), Pucc. Stipae (Opiz) Hora, Pucc. Glechomatis DC., Pucc. annularis (Strauss) Schlecht., et Pucc. Stachydis DC.

Ce travail a été commencé à l'Institut botanique de Berne, sous la direction de M. le prof. Fischer, pendant l'été 1904, et poursuivi à Payerne en 1905.

La bienveillance avec laquelle M. le prof. Fischer a suivi ces études, et les nombreux conseils, renseignements et matériaux qu'il m'a donnés ou procurés au cours de ces deux années m'ont été du plus grand secours. Je suis heureux de pouvoir lui en exprimer ici ma vive et profonde gratitude.

M. le Dr. prof. Wilczek a bien voulu examiner et vérifier les noms des Calaments et de quelques Menthes; je lui en témoigne toute ma reconnaissance, ainsi qu'à mon père qui, dès mon jeune âge, m'a inculqué le goût de la botanique.

Un chaleureux merci à MM. Ph. Farguet à Martigny (par l'intermédiaire de M. le chanoine Besse), Prof. Ed. Fischer, Prof. L. Fischer à Berne, W. Rytz cand. phil. à Berne, Dr. Semadeni à Poschiavo, Dr. Wurth à Berne, pour les matériaux sporifères qu'ils m'ont procurés; à l'établissement fédéral pour le contrôle des semences à Zurich pour l'envoi de graminées saines; et à MM. Juel en Suède et Rostrup en Danemark pour la communication d'échantillons d'herbier.

Tous mes remerciements aussi à M. Schenk, jardinier chef du Jardin botanique de Berne, et à ses aides pour les soins donnés aux plantes; de même à M. Addor, jardinier à Payerne, qui, par sa serre mise gratuitement à ma disposition, et par un concours obligeant, a facilité ma tâche.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Procédés opératoires.

Après quelques essais faits sur la germination de Puccinia Menthae (téleutospores) j'ai adopté le procédé suivant pour cette espèce: Le matin les feuilles téleutosporifères étaient placées dans une certaine quantité d'eau, puis agitées de temps à autre, surtout au moment de l'utilisation, de façon à détacher les téleutospores des branches ou des feuilles. Au moyen d'un pulvérisateur en verre, le liquide était ensuite répandu sur les plantes à infecter, et une goutte, placée sur porte-objet, servait à contrôler le nombre des spores et à en observer la germination en chambre humide. Même façon d'opérer pour les infections avec les aecidiospores et avec les urédospores. On emploie avec succès ces mêmes procédés au laboratoire de l'Université de Berne, chaque fois que l'on a affaire à des téleutospores qui se détachent facilement.

Le procédé le plus habituel pour les infections au moyen des téleutospores a été utilisé pour les autres espèces. Les fragments sporifères ramollis par un séjour de quelques heures dans l'eau sont essuyés puis placés sur les plantes en expérience de telle façon que les basidiospores tombent directement sur les jeunes pousses. On pulvérise ensuite un peu d'eau pour donner le plus d'humidité possible. L'infection faite, la plante est recouverte d'une cloche en verre, bocal ou autre objet de dimension appropriée et dont l'intérieur est tapissé d'un papier à filtrer plus au moins mouillé. Au bout de 3—5 jours les papiers sont retirés, puis les cloches et enfin les plantes portées en serre pour échapper aux causes d'infection pouvant venir du dehors.

Pendant l'été 1904, j'avais à Berne tout le matériel nécessaire pour infections, cloches en verre de toutes dimensions, et des serres en nombre suffisant pour isoler les divers essais. A Payerne en 1905, ne jouissant plus de ces privilèges, voici comment j'y ai remédié pour les plantes devenues trop grandes et ne pouvant être recouvertes par les bocaux d'usage courant (20—30 cm de haut). A chacun de ceux-ci je fixais des agrafes en fil de fer et les suspendais au moyen d'une ficelle à une traverse faisant potence. Le haut de la plante pouvait ainsi être enfermé et, pour que le bas le fût aussi, le bocal se prolongeait au moyen d'un papier paraffiné, assez imperméable, doublé de buvard à l'intérieur. J'ai pu utiliser ainsi, sans trop les faire souffrir, des plantes qui avaient de 50 à 70 cm. de haut.

La nécessité où je me trouvais en automne 1905 de traiter à la fois un assez grand nombre de plantes me fit chercher un procédé plus rapide. Une grande caisse vitrée pouvant contenir l'ensemble des plantes aurait sans doute rempli le but désiré mais en attendant je pris simplement une caisse en bois et la tapissai intérieurement d'une couche de papier imperméable d'abord, puis de papier buvard. Une feuille de papier huilé faisant fermeture sur le côté diffusait suffisamment de lumière à l'intérieur. Les plantes prenaient place dans la caisse fortement mouillée, au fur et à mesure de leur infection. Par ce procédé, l'opération marchait vite et en retirant pour un instant le papier huilé, il était toujours possible de redonner de l'eau et de l'air et de surveiller le tout.

Papiers buvards et paraffinés étaient naturellement changés à chaque expérience et les bocaux lavés soigneusement, ainsi que tout ce qui pouvait conserver des spores.

Pour éviter des infections venant d'ailleurs et pour bien isoler les séries parallèles, je devais avoir à ma disposition au moins trois serres

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

indépendantes et assez éloignées pour que les spores ne pussent pas aller de l'une à l'autre. A Berne, les serres du Jardin bot. satisfaisaient à de telles exigences, mais en 1905 je n'avais à ma disposition que celle prêtée obligeamment par M. Addor, jardinier. J'aurais pu avoir recours aux deux autre jardiniers de Payerne, mais la distance qui me séparait de leurs établissements était trop grande. Je résolus alors de me confectionner deux serres avec charpente en bois; mais reculant devant la grande dépense occasionnée par les vitrages, je choisis le papier d'emballage huilé à l'huile de lin et la mousseline fine traitée de la même façon, jusqu'à obturation complète des jours. De nombreux essais avaient été faits au préalable avec différents papiers et diverses huiles. Il fallait naturellement grande résistance au vent, et lumière en suffisance. La mousseline réunit ces avantages, mais laisse trop passer les rayons calorifiques. Le papier d'emballage, un peu plus jaune peut-être, m'a donné de bons résultats. Il se prépare et se pose aussi plus facilement. Les accrocs, coups de grêle ou autres, sont vite réparés avec du papier de soie huilé.

## Puccinia Menthae Pers.

De Candolle dans sa „Flore française", Tome VI, p. 57, donne une description de Puccinia Menthae. Winter dans la Rabenhorsts „Kryptogamen-Flora" la reprend plus à fond, en indiquant un assez grand nombre de plantes comme support.

Dans la „Monographia Uredinearum" de MM. P. et H. Sydow on trouve à la suite de la description de P. Menthae la remarque suivante:

„Obgleich ein sehr reiches Untersuchungsmaterial aus den verschiedensten Gegenden und Ländern vorlag, gelang es doch nicht, irgendwelche durchgreifende Unterschiede der auf den verschiedenen Nährpflanzen auftretenden Pflanzen nachzuweisen. Trotzdem liegt der Gedanke nahe, daß auch diese Art eine Sammelspecies darstellt und in mehrere selbständige Species zu zerlegen ist, wie dies in analoger Weise schon mit Pucc. Hieracii, Prenanthis, Asteris etc. geschehen ist. Nur eingehende Kulturversuche können auch hier über diese Frage Aufschluß geben. Die Form, Farbe und Größe der Sporenlager ist bei allen Formen gleich. In den Teleutosporen lassen sich zwar kleine Verschiedenheiten auffinden, so in der geringeren oder stärkeren Ausbildung der Warzen und Scheitelpapille und in der Länge des Stieles. Würden diese Verschiedenheiten für die eine oder andere Nährpflanzenform absolut konstant sein, so ließen sich hieraufhin eigene Arten basieren; aber man findet nun, daß ebendieselben Verschiedenheiten bei Exemplaren derselben Nährpflanzen, welche aus verschiedenen Gegenden stammen, auftreten. Die Aecidienform ist sehr viel seltener als die anderen Sporenformen. Dieselbe wurde unseres Wissens bisher in Europa nur auf Calamintha officinalis, Clinopodium vulgare, Mentha aquatica, arvensis, silvestris, viridis, und in Nordamerika erst ganz kürzlich auf Monarda fistulosa gefunden. Hieraus geht hervor, daß das Aecidium nur fakultativ zur Fortpflanzung der Art nötig ist."

Ces quelques phrases, ainsi que la petite discussion donnée par M. Fischer (Uredineen der Schweiz) après sa diagnose de P. Menthae, formaient les données du problème à résoudre. Deux choses étaient donc à faire: D'une part essayer des cultures et reconnaître les différences

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

biologiques éventuelles, d'autre part chercher si celles-ci correspondent aux petites différences morphologiques indiquées, ce qui permettrait de procéder à une division de l'espèce actuelle P. Menthae Pers.

C'est à l'étude biologique que je me suis essentiellement attaché au commencement, et ce n'est qu'après avoir pu distinguer plusieurs formes différentes qu'il me fut possible de constater si elles présentaient, ou non, des différences morphologiques.

Avant d'aborder ces études, je me vois dans l'obligation d'ouvrir ici une parenthèse et de donner les quelques renseignements indispensables qui suivent.

### Remarques sur quelques plantes utilisées dans les essais.

Mentha longifolia Huds. = M. silvestris L. Proviennent de plusieurs endroits, mais sans offrir de très grandes différences; celles de Corcelles près Payerne et de Wabern près Berne ont des feuilles assez allongées et une villosité relativement faible; celles de Payerne ont les feuilles moins lancéolées et plus tomenteuses; celles de Montagny s/Yverdon sont encore plus tomenteuses et à spicastre épais; celles provenant de graines (St. Petersbourg) et la var. crispa sont restées chétives.

Mentha alpigena Kerner (de graines du jardin bot. de Vienne) est une var. de longifolia. Elle a eu plusieurs de ses pieds qui correspondaient exactement à la description (Thomé's Flora von Deutschland etc.); je ne puis cependant pas affirmer qu'il en ait été de même pour tous, car venant d'un jardin botanique il se peut qu'il y ait eu hybridisation.

Menthes No. 1, 2, 3 et 4, de graines provenant des jardins bot. de Vienne (Nos. 1 et 2) et de Stockholm (No. 4). Les noms sous lesquels ces graines avaient été expédiées étaient respectivement les suivants: M. domestica, mollissima, diversifolia et candicans var. Eisensteiniana; autant de noms de variétés de la M. longifolia. Les poils en partie ramifiés, ainsi que d'autres caractères m'ont amené à supposer qu'elles devaient être des hybrides M. rotundifolia × longifolia[1]). Peut-être faudrait-il y ajouter encore M. aquatica. Une détermination plus approfondie devenait inutile, car en 1905, au moment de la floraison j'ai vu, parmi les pots utilisés, des plantes qui, quoique ayant même étiquette, n'étaient pas identiques. Cela enlève naturellement toute précision aux essais faits avec ces plantes, mais les résultats obtenus m'ont néanmoins engagé à les conserver. Ces 4 plantes seront mentionnées dans la suite par leurs Nos. indiqués plus haut, et, détail intéressant, elles ressemblaient davantage à M. longifolia qu'à M. rotundifolia. On peut supposer que ces graines fournies par des jardins bot. proviennent de fécondations croisées rendues faciles par le voisinage immédiat de plusieurs espèces.

Mentha rotundifolia Huds. (de graines du jardin bot. de Vienne) correspond à la description. Il en est de même pour M. viridis L. var. piperella Lej., et var. crispata (Schrad.); et pour les diverses M. arvensis L.

---

1) Cette conclusion a été formulée après consultation de l'ouvrage de M. Briquet: „Les Labiées des Alpes maritimes", p. 62 et suiv., et du même auteur les remarques relatives aux hybrides dans Engler et Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien (Labiées. p. 323).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mentha arvensis L. var. parietariaefolia Beck. de graines aussi. Elle était dénommée M. canadensis, mais comme ses caractères correspondent bien à ceux de la variété nommée, je n'hésite pas à changer le nom.

Mentha verticillata L. = M. aquatica × arvensis Lasch. proviennent de Payerne où elle se trouve mélangée aux deux parents.

Mentha aquatica L. Les échantillons arrachés dans des graviers humides et ombragés au bord de l'Aar près de Wabern (Berne), quoique ressemblant parfaitement à M. aquatica, ont présenté de légères différences au cours des essais. Les caractères sont ceux d'une M. aquatica peu velue, à tiges faiblement ascendantes et à feuilles crénelées dentées, assez obtuses au sommet, arrondies ou très peu atténuées à la base.

Mentha dumetorum Schult. (M. aquatica × longifolia) var. Nepetoidis (Lej.) Briq. provient de la station indiquée déjà par Rapin (Guide du botaniste) près de Payerne.

Mentha piperita L. (M. aquatica × viridis) sous deux variétés: var. officinalis Sole (M. aquatica $<\times$ viridis) provient de graines de Paris; je n'ai pas pu l'observer à l'état adulte, par suite de l'état chétif des plantes; var. citrata Ehrh. (M. aquatica $>\times$ viridis) provient du jardin de la cure à Montagny s/Yverdon.

Pour le genre Calamintha j'ai adopté la nouvelle nomenclature de la „Flora der Schweiz“ par MM. Schinz et Keller:

Satureya hortensis L., montana L. et grandiflora L. (Scheele) = Calamintha grandiflora L. proviennent de graines.

Satureya Calamintha L. (Scheele) subsp. silvatica (Bromf.) = Calamintha officinalis Mönch, provient de Baulmes.

Satureya Calamintha subsp. ascendens (Jord.) Briq. = Calamintha Jord. de graines de Paris indiquées sous le nom de Calamintha officinalis.

Satureya Calamintha L. (Sch.) subsp. Nepeta L. var. Nepetoides (Jord.) Briq. = Calamintha nepetoides Jord. a fourni du matériel d'infection pour l'essai 35.

Satureya Calamintha L. (Sch.) subsp. Nepeta L. var. Nepeta (L.) Briq. provient de graines du Jardin des plantes de Paris, sous le nom de Calamintha Nepeta Link.

Satureya clinopodium (Spenn.) = Clinopodium vulgare L.

Satureya alpina L. et acinos L. correspondent à Calamintha alpina Lam. et acinos Clairv.

## Chapitre 1.

### Recherches sur la spécialisation de P. Menthae.

Puccinia Menthae a été trouvée (Mon. Ured., P. et H. Sydow) sur une foule de plantes de la famille des Labiées telles que des Mentha, Calamintha, Clinopodium, Melissa, Melittis, Nepeta, Origanum, Satureya hortensis et montana, Thymus, Nepeta, ainsi que sur nombre de plantes américaines. A ma connaissance un seul essai de culture a été fait par M. Klebahn qui a démontré que les aecidiospores produisent des urédos (Ured. der Schweiz, Ed. F. p. 169) et que cette Puccinia est auteucique.

Les essais qui suivent sont classés en 9 groupes correspondant aux plantes qui ont fourni le matériel d'infection; ce sont:

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | | |
|---|---|---|
| I. | Essais avec spores provenant de | Mentha longifolia |
| II. | „ „ „ „ „ „ | viridis |
| III. | „ „ „ „ „ „ | arvensis |
| IV. | „ „ „ „ „ „ | aquatica |
| V. | „ „ „ „ „ „ | piperita var. citrata |
| VI. | „ „ „ „ „ | Satureya Clinopodium |
| VII. | „ „ „ „ „ „ | Calamintha var. silvatica |
| VIII. | „ „ „ „ „ „ „ | var. nepetoides |
| IX. | „ „ „ „ „ „ | acinos et alpina |

## A. Essais.

### I. Essais avec spores provenant de Mentha longifolia.

#### a. Téleutospores.

Essai 1.

Commencé le 26 avril 1904.

Le matériel recueilli en février 1904 à Montagny s/Yverdon, consistait en tiges desséchées encore dressées, en feuilles tombées à terre et dans le fossé où croissaient ces plantes. Après être restés en sacs dehors, ces débris ont été soustraits aux intempéries vers le milieu de mars.

L'infection est faite par pulvérisation et par dépôt direct des téleutospores.

| Plantes mises en essai | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha viridis var. crispata | Jardin bot. de Berne |
| 2. „ „ „ piperella | „ „ „ „ |
| 3. Satureya grandiflora | „ „ „ „ |
| 4. „ clinopodium | Arraché près de Berne |
| 5. „ „ | Graines du jardin bot. de St. Pétersbourg |
| 6. Origanum vulgare | Arraché à Montagny s/Yverdon. |
| 7. „ „ | „ „ „ |

En chambre humide la germination sur porte-objet réussit bien.

Toutefois le résultat fut complètement nul malgré la bonne qualité du matériel et l'état vigoureux des plantes en expérience. Je mentionne néanmoins cet essai, d'autant plus que les résultats négatifs sur les plantes citées se sont vérifiés dans la suite.

Essai 2.

Commencé le 5 mai 1904.

Même matériel que pour l'essai 1 et même façon d'opérer.

| Plantes mises en essai | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Région de Corcelles près Payerne |
| 2. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 3. „ aquatica | Dahlhölzli près Berne |

Le 7 mai l'essai fait en chambre humide présentait une germination complète.

Le 17 mai, soit après 12 jours d'incubation, le No. 1 présente de petites pustules blanchâtres à la face supérieure et sur le bord de plusieurs feuilles. Le lendemain même phénomène sur le No. 2 avec apparition de pycnides. Les jeunes feuilles et les plus âgées n'ont rien.

Le 26 mai Nos. 1 et 2 ont des pycnides et No. 3 a deux taches sur une feuille.

Le 7 juin, enfin, Nos. 1 et 2 ont des aecidies formées, tandis que le No. 3 n'en a qu'une petite sur l'une des deux taches observées le 23 mai. Les aecidies des deux M. longifolia ont continué à grandir, les tiges atteintes se sont déformées, tandis que l'aecidie de M. aquatica restait sans changements.

Donc les téleutospores prises sur M. longifolia produisent la formation d'aecidies sur la même plante hôtesse; aucune apparition d'urédos n'a été constatée. La faible réussite sur M. aquatica n'a pas été vérifiée dans la suite, et en été une inspection

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 · Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

faite de l'endroit où j'avais recueilli le matériel m'a fait voir que près de M. longifolia malade se trouvait aussi M. aquatica atteinte. Il se pourrait donc fort bien que des spores provenant de cette plante aient amené ce résultat.

### Essai 3.

Commencé le 13 mai 1904.

Même matériel parasitaire que pour les essais 1 et 2.

Les plantes sont infectées par pulvérisation du liquide tenant en suspension les téleutospores.

| Plantes mises en essai | Provenance |
|---|---|
| 1 et 3. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 2. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 4 et 5. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 6. „ aquatica | Dahlhölzli près Berne |
| 7. „ arvensis | Montagny s/Yverdon |
| 8. „ piperita citrata | „ „ |
| 9. Satureya Clinopodium | „ „ |
| 10. Origanum vulgare | „ „ |
| 11. Satureya grandiflora | Jardin bot. de Berne |
| 12. Melissa officinalis | „ „ „ „ |

Le lendeman matin déjà un grand nombre de spores avaient germé en chambre humide.

Contrôlé avec soin le 23 et le 26 mai, le 20 juin et le 5 août, cet essai donne les renseignements suivants:

Les M. longifolia Nos. 1, 2 et 3 présentent des boursoufflures sur feuilles, et des bosses sur tiges le 23 mai. Du 26 mai au 1 juin, apparition des aecidies aux endroits déformés; le 20 juin elles disparaissent (les meilleures sont prises comme matériel d'infection pour l'essai 7). — Le 20 juin les Nos. 1 et 3 ont des urédos sur quelques feuilles qui tombent ensuite. L'une des M. viridis, No. 4, a plusieurs feuilles, voisines d'une tige de M. longifolia aecidiée, couvertes de tout petits amas d'urédos. Ils existaient encore tels le 5 août, et les feuilles atteintes étaient à la veille de tomber.

Cet essai donne un résultat analogue à celui de l'essai 2, et fait voir en outre que, des deux M. viridis, aucune n'a eu d'aecidies, mais que l'une, infectée sans doute par des spores voisines, a donné des urédos. Les M. viridis de la plate-bande où j'avais pris les exemplaires mis en pots ne présentaient alors pas trace de maladie.

Les autres plantes sont toutes restées saines.

### Essai 4.

Commencé le 18 mai 1904.

Même matériel et même façon d'opérer que pour l'essai 3. Après avoir constaté le 17 mai la réussite de l'essai 2, démontrant l'efficacité du procédé opératoire, cet essai fut entrepris avec les plantes suivantes:

| Plantes mises en essai | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Graines du jard. bot. de St. Pétersbourg |
| 2. „ „ | Corcelles près Payerne |
| 3. „ „ | Wabern près Berne |
| 4. „ No. 3 | Graines de ? |
| 5. „ alpigena | Graines du jardin bot. de Vienne |
| 6. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 7. „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 8. „ No. 3 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 9. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 10. „ viridis var. crispata | „ „ „ „ d'Hambourg |
| 11 et 12. „ „ „ piperella | „ „ „ „ de Berne |
| 13. „ arvensis var. parietariaefolia | „ de ? |
| 14. „ aquatica | Wabern près Berne |
| 15. „ „ | Selhofenmoos près Berne |
| 16. „ „ | Dahlhölzli près Berne |
| 17. Satureya hortensis | Graines du jard. bot. de St. Pétersbourg |
| 18. „ montana | „ „ „ „ „ Paris |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| 19. Lycopus europaeus | Graines ? |
| 20. Satureya acines | „ du jard. bot. de Stockholm |
| 21. „ Calamintha var. ascendens | „ „ „ „ „ Paris |
| 22. „ Clinopodium | Montagny s/Yverdon |
| 23. Origanum creticum | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 24. „ vulgare | „ „ „ „ d'Upsala |
| 25. „ „ | Dahlhölzli près Berne |
| 26. Ballota nigra | Graines de ? |
| 27. Monarda fistulosa | Jardin bot. de Berne |
| 28. Melissa officinalis | „ „ „ „ |
| 29. Nepeta cataria | Graines du jardin bot. de Paris |

En chambre humide les téleutospores ne germent pas aussi bien que pour les essais précédents.

Le No. 2 (Mentha longifolia) présente le 7 juin des taches sur une feuille qui tombe au moment de la formation de l'aecidie.

No. 3 (M. longifolia) présente aussi le 7 juin des pustules, le 10 des pycnides, puis des aecidies ouvertes sur plusieurs tiges et feuilles, mais non suivies d'urédos.

No. 4 (Mentha No. 3). 2 des plantes sont atteintes, mais la maladie ne suit pas son évolution d'une façon normale. Les aecidies ouvertes sont en très petit nombre, tandis que les nodosités de la tige restent dans le même état pendant plus d'un mois et disparaissent ensuite.

No. 5 (M. alpigena) a des aecidies le 4 juin; ses tiges sont encore déformées le 23 et les urédos apparaissent au commencement de juillet.

No. 6 (Mentha No. 1) n'a qu'une feuille atteinte le 10 juin, avec aecidies plus tard, et urédos en juillet.

No. 7 (Mentha No. 2) a une de ses tiges enflée et avec aecidies le 10 juin. Pas d'urédos dans la suite.

No. 8 (Mentha No. 4) meurt après avoir eu des pycnides sur une feuille le 4 juin.

No. 9 (M. rotundifolia); aecidies en juin et urédos en juillet.

No. 10 (M. viridis crispata) a le 4 juin des taches sur le bas de la tige et ces taches deviennent des bosses le 10, puis le tout disparaît sans donner d'aecidies.

No. 13 (M. arvensis var. parietariaefolia) a le 4 juin des taches, les tiges se boursoufflent et ont des aecidies le 10 juin. Même état le 23, puis urédos en juillet et août, et enfin en septembre-octobre apparaissent les téleutospores.

No. 17 (Satureya hortensis) présente le 7 juin des renflements sur plusieurs points de ses tiges. Coupée par les mollusques, cette plante meurt au commencement de juillet, après avoir présenté seulement quelques aecidies difficiles à apercevoir.

Le No. 1 meurt dès les premiers jours.

Toutes les autres plantes sont restées indemnes.

L'examen des résultats de cet essai montre que les jeunes plantes provenant de semis, sauf Satureya hortensis, ont montré les phénomènes d'infection le 4 juin, soit 3 jours plus tôt que les 2 Mentha longifolia beaucoup plus grandes; que les jeunes tissus de ces plantes se sont modifiés au point d'amener des déformations complètes, surtout chez les Nos. 5 et 13.

Mentha viridis adulte n'a rien eu, tandis que la var. crispata de semis a présenté un commencement d'infection.

Mentha aquatica s'est montré aussi absolument réfractaire.

L'infection réussie de Satureya hortensis était le point le plus intéressant de l'essai, d'autant plus que les caractères de cette plante l'éloignent assez de Mentha longifolia. La réussite sur les Nos. 4 à 8 n'avait rien d'extraordinaire, vu que ces plantes ressemblent à M. longifolia, mais par contre, il était assez étonnant de voir la maladie se transmettre avec autant de facilité sur M. arvensis var. parietariaefolia, si voisine de M. arvensis, restée indemne dans l'essai 3.

### Essai 5.

Commencé le 12 mai 1905.

Les téleutospores proviennent de Payerne (Vers chez Savary) et ont été récoltées le 26 février 1905.

Infecté par pulvérisation les plantes suivantes:

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Payerne |
| 2. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 3. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 4. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ „ |
| 5. „ viridis | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 6. „ „ | „ „ „ „ „ Paris |
| 7. „ pulegium | „ „ „ „ „ „ |
| 8. „ arvensis | Payerne |
| 9. Nepeta Cataria | Graines du jard. bot. de Paris |
| 10. Origanum vulgare | Payerne |
| 11. Satureya hortensis | Semis |
| 12. Mentha piper. var. citrata | Montagny s/Yverdon |
| 13. „ aquatica | ? |

L'essai de germination sur porte-objet donne un résultat négatif pendant les 4 jours passés en chambre humide, résultat absolument différent de celui que j'avais obtenu en 1904. Des divers matériaux récoltés celui-ci a été choisi parce qu'il avait passé l'hiver sur place. Pour augmenter les chances de réussite, la quantité de spores était telle que le liquide qui les renfermait avait une teinte d'un brun roux foncé. Le résultat, sans être aussi bon qu'il eût pu l'être avec une pareille quantité de spores, fut néanmoins satisfaisant.

Le No. 1 (M. longifolia) présente des pycnides le 28 mai, soit 16 jours plus tard; le 12 juin il a des aecidies qui sont restées longtemps, mais sans donner d'urédos plus tard.

No. 2 (M. alpigena), mêmes remarques que pour le No. 1.

No. 3 (M. No. 1), les aecidies, apparues au même moment, durent peu.

No. 4 (M. rotundifolia) a aussi des aecidies, mais seulement au bas de la tige déjà assez grande. Celles-ci disparaissent le 24 juin.

No. 5 (M. viridis) a le 12 juin une feuille peu aecidiée et le 24 plus rien.

No. 9 (Satureya hortensis), le 12 juin une feuille a des aecidies bien mûres; 3 jours plus tard cette feuille existe encore et d'autres ont des urédos naissants.

L'infection a donc été complète sur Nos. 1 et 2, un peu plus faible sur No. 3, et surtout sur No. 4, plus faible encore sur No. 5 et nulle sur les autres plantes sauf sur Sat. hortensis. Celle-ci a paru présenter un passage direct de la téleutospore à l'urédo; je n'ose cependant pas l'affirmer, car je n'ai pu découvrir aucune pycnide dans le voisinage des amas encore jeunes, et surtout ces amas ne se sont formés que quelques jours après les aecidies citées plus haut. Il se peut donc que les premières aecidiospores mises en liberté aient eu le temps de propager l'infection. Ce retard dans l'apparition des amas et l'absence de pycnides empêchent donc de trancher la question.

### b. Aecidiospores.

Essai 6.

Commencé le 11 mai 1904.

Matériel provenant de Valeyres sous Montagny (près Yverdon), reçu le 11 mai et utilisé de suite. Les tiges aecidiées sont agitées avec un peu d'eau, puis celle-ci est pulvérisée sur les plantes. Chaque goutte renferme 1—2 spores.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1 et 2. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 3. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 4 et 5. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 6. „ aquatica | Dahlhölzli près Berne |
| 7. „ piper. var. citrata | Montagny s/Yverdon |
| 8. „ arvensis | „ „ |
| 9. Satureya Clinopodium | „ „ |
| 10. Origanum vulgare | Dahlhölzli près Berne |
| 11. Melittis melissophyllum | Montagny s/Yverdon |

En chambre humide, sur porte-objet, la germination est nulle.

Quinze jours plus tard, soit le 26 mai, les Nos. 1 et 2 (M. longifolia) présentent des urédos. Sur 2 ils sont précédés par la formation de bosses analogues à celles qui accompagnent l'apparition des aecidies; la quantité d'urédos a aussi été plus grande que sur No. 1. Les deux plantes provenaient pourtant d'endroits très voisins et étaient

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

morphologiquement identiques. Peu à peu les amas disparaissent laissant une tache brune, puis les feuilles tombent dans le courant de juin.

Le No. 3 (M. longifolia) n'a rien eu. Sa villosité plus forte que dans Nos. 1 et 2 retenait probablement les spores loin de l'épiderme et de plus la plante était souffrante.

Nos. 4 et 5 (M. viridis) présentaient quelques pustules le 26 mai et le 1 juin des urédos apparaissent très parsemés sur les feuilles les plus basses.

Les autres plantes n'ont rien eu.

### Essai 7.

Commencé le 7 juin 1904.

Matériel sporifère provenant des M. longifolia Nos. 1, 2 et 3 de l'essai 3. Quelques aecidies en sont détachées, puis agitées dans peu d'eau, et le liquide pulvérisé sur:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1 et 2. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 3. „ viridis var. crispata | „ „ „ |
| 4. „ arvensis | Montagny s/Yverdon |
| 5. „ aquatica | Dahlhölzli près Berne |
| 6. „ „ | Wabern „ „ |
| 7. „ „ | Gürbe „ „ |
| 8. Monarda fistulosa | Jardin bot. de Berne |
| 9. Origanum vulgare | ? |

Le 18 juin, soit 11 jours après l'infection, les 2 M. longifolia avaient de petits amas et le 23 juin le résultat était complet sur 1, moins sur 2.

Le No. 3 (M. viridis var. crispata) a succombé.

Les autres plantes ne présentent rien d'anormal.

### Essai 8.

Commencé les 5 et 6 juillet 1904.

Matériel provenant de Poschiavo, récolté par M. le Dr. Semadeni et reçu par l'intermédiaire de M. le Dr. Th. Wurth. Les aecidies sont très avancées et fournissent quantité de spores.

Le 5 juillet les plantes suivantes sont infectées:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1 et 2. Mentha longifolia | Montagny s/Yverdon |
| 3. „ aquatica | „ „ |
| 4. „ arvensis | Berne |
| 5. Satureya Clinopodium | Montagny s/Yverdon |

et le lendemain 6 juillet, l'essai est continué sur:

| | |
|---|---|
| 6. Mentha longifolia | Graines du jard. bot. de St. Pétersbourg |
| 7. „ No. 1 | „ „ „ „ „ Vienne. |
| 8. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 9. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 10. „ viridis | „ „ „ „ „ Paris |
| 11. „ „ | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 12. „ piperita var. off. | „ „ „ „ „ Paris |
| 13. „ pulegium | „ „ „ „ „ „ |

L'essai fut contrôlé à maintes reprises et plus à fond le 22 juillet et le 5 août.

No. 1 (M. longifolia) n'a que des taches brunes sur feuilles.

No. 2 (id.) a quelques urédos, mais qui disparaissent très tôt.

No. 6 (id.) a des urédos et même quelques téleutospores en automne.

No. 7 (M. No. 1) très urédosporé le 22, n'a plus rien le 5 août.

No. 8 (M. No. 4) n'a que peu d'amas.

No. 9 (M. rotundifolia) avait des urédos assez nombreux et petits, mais le 5 août ils disparaissent.

No. 10 (M. viridis) n'a que de très petites taches brunes sous urédos, mais, leur apparition correspondant juste à la venue des premiers urédos sur les autres plantes, je suis certain qu'il faut l'attribuer aux hyphes de la Puccinia. D'ailleurs:

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. 11 (M. viridis) présente les mêmes taches mais avec amas d'urédos très petits et fugaces.

No. 12 (M. piperita) présente aussi des taches brunes.

Rien chez les autres plantes.

A voir ces résultats, il apparaît d'une façon assez nette que ces aecidiospores, semées sur des plantes déjà grandes (Nos. 1—2) et sur des semis de l'année, ont mieux infecté ces derniers, à tissus beaucoup plus délicats.

### Essai 9.

Commencé le 26 mai 1905.

Matériel récolté non loin de Payerne, entre Corcelles et Léchelles. Les aecidies sont nombreuses et sans urédos.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Payerne |
| 2. „ No. 4 | Graines du jard. bot. de Stockholm |
| 3. „ No. 3 | „ „ „ „ „ ? |
| 4. „ viridis | „ „ „ „ „ Paris |
| 5. „ „ | Jard. bot. de Berne |
| 6. „ „ | Graines du jard. bot. de Montpellier |
| 7. „ „ var. crispata | „ „ „ „ „ d'Hambourg |
| 8. „ arvensis | Payerne |
| 9. „ piperita var. citrata | Montagny s/Yverdon |
| 10. Satureya hortensis | ? |
| 11. „ montana | ? |
| 12. „ Calam. var. silvatica | Baulmes |
| 13. „ alpina | Suchet |

En chambre humide la germination s'est montrée complète au bout de 2 jours.

Les premiers effets de l'infection ont apparu vers le 10 juin; un contrôle complet, fait le 12 et le 23 juin, a donné les renseignements suivants:

No. 1 (M. longifolia) a des urédos sur quelques feuilles, et le 23 celles-ci tombent, sauf une, mais qui disparaît aussi plus tard.

No. 2 (M. No. 4) n'a rien.

No. 3 (M. No. 3) présente un assez grand nombre d'urédos le 12, puis tout disparaît.

No. 5 (M. viridis) avait de nombreux amas, petits, mais le 23 toutes ces feuilles atteintes tombent.

No. 7 (M. viridis var. crispata) est encore un peu atteint le 23.

No. 10 (Satureya hortensis) très fortement infecté, beaucoup plus que toutes les autres plantes.

Craignant que l'air de la serre en papier huilé ne fût trop sec, je mis les plantes de cet essai dans une cage en papier de soie huilé aussi, où de fréquents arrosages entretenaient une forte humidité. Malgré les tentatives faites pour perpétuer l'infection, il n'a pas été possible d'obtenir des téleutospores. Dès les premiers jours de juillet les anciens amas disparaissent sans qu'il en vienne de nouveaux; ils laissent une tache brune, ou bien c'est la feuille entière qui tombe quelques jours plus tard. De leur côté les plantes hôtesses n'ont pas paru souffrir de ce procédé.

Satureya hortensis, si chargé d'urédos m'engagea à faire l'essai suivant pour voir si l'urédo pourrait infecter à nouveau M. longifolia.

#### c. Urédospores.

### Essai 9 bis.

Commencé le 14 juin 1905.

Matériel d'infection: Urédos de Satureya hortensis de l'essai 9.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 2. „ arvensis | Payerne |
| 3. „ aquatica | „ |

Les 3 pots renferment des plantes vigoureuses et autant que possible égales entre elles.

Le 29 juin soit 15 jours après l'infection, les urédos apparaissent nombreux sur

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

toutes les feuilles adultes de la M. longifolia. Ils se développent puis disparaissent plus tard (quelques semaines). Les deux antres Menthes n'ont absolument rien eu.

De cet essai il résulte que des urédos sur Satureya hortensis produits par des aecidies de Mentha longifolia redonnent sur cette même plante une infection positive et abondante.

Essai 10.

Commencé le 6 juin 1904.

Matériel provenant de Valeyres sous Montagny (près d'Yverdon), soit de la même station que les aecidies de l'essai 6. Quelques tiges ont encore des aecidies, mais desséchées. Les urédospores très nombreuses sont répandues sur les plantes suivantes de la même façon que précédemment.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1 et 2. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 3. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 4. „ „ var. crispata | Corcelles près Payerne |
| 5. „ arvensis | Montagny s/Yverdon |
| 6. „ aquatica | Dahlhölzli près Berne |
| 7. „ „ | Wabern „ „ |
| 8. Melissa officinalis | Jardin bot. de Berne |
| 9. Melittis melissophyllum | Montagny s/Yverdon |
| 10. Origanum vulgare | Dahlhölzli près Berne |

Les Nos. 1 et 2 (Mentha longifolia) sont attaqués à partir du 16 juin, où les feuilles présentaient quelques taches blanches. A celles-ci succèdent des boursoufflures d'abord, puis des urédos. Les amas suivants n'ont pas représenté ce phénomène. Le 23 juin l'infection était générale.

No. 3 (M. viridis) avait sur les feuilles des taches claires avec urédos naissants. Le 23 l'infection est assez complète.

No. 4 (M. viridis var. cripata) a succombé.

Cet essai montre que l'infection faite avec des urédospores réussit très bien et ce fait m'engagea à renouveler l'essai avec un plus grand nombre de plantes.

Essai 11.

Commencé le 23 juin 1904.

Les spores nécessaires sont empruntées à l'essai 7 (M. longifolia Nos. 1 et 2) et à l'essai 10 (M. longifolia Nos. 1 et 2). Les feuilles les plus chargées d'urédos sont coupées, et servent à infecter par pulvérisation les plantes:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Semis de graines du jardin bot. de St. Pétersbourg |
| 2. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 3. „ „ | Corcelles près Payerne |
| 4. „ „ var. crispa | Graines du jard. bot. d'Hambourg |
| 5. „ alpigena | „ „ „ „ de Vienne |
| 6. „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 7. „ No. 3 | „ „ „ „ „ ? |
| 8. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 9 et 10. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 11. „ viridis | „ „ „ „ „ Paris |
| 12. „ arvensis var. parietariaefolia | „ de ? |
| 13. „ pulegium | „ du jard. bot. de Paris |
| 14. Satureya montana | „ „ „ „ „ „ |
| 15. „ hortensis | ? |

La quantité de spores pulvérisées était un peu plus faible que dans l'essai précédent.

Le 6 juillet on commence à voir des taches plus claires sur les Nos. 1, 3, 7 et 9. Les jours suivants le résultat devient certain sur:

Mentha longifolia, Nos. 1 et 3 fortement atteints; No. 2 moins.

M. No. 3 (No. 7) a ses feuilles inférieures remplies d'urédos.

M. rotundifolia (No. 9), très atteint le 14 juillet, n'a presque plus rien le 5 août, malgré le bon état des feuilles qui ne tombent pas comme chez les autres plantes.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

M. viridis (No. 11) a seulement quelques urédos.

M. arvensis var. parietariaefolia (No. 12) est fortement atteint le 14 juillet.

Satureya hortensis (No. 15) n'a que quelques taches suivies de peu d'urédos.

A part le No. 12, les plantes de cet essai se sont montrées plus réfractaires que dans l'essai 10. Le fait que le matériel d'infection était moins riche en urédos, ne suffit pas cependant pour expliquer ce phénomène qui aurait passé parfaitement inaperçu s'il ne se fût pas renouvelé dans les 2 essais qui suivent.

Il eût été intéressant de continuer ces essais quelques semaines plus tard de façon à obtenir des téleutospores, mais le semestre se terminait à Berne, et n'étant pas encore installé à Payerne pour des recherches analogues, je dus attendre jusqu'en été 1905.

(A suivre.)

## Corrigendum.

In der Arbeit von H. Müller-Thurgau, Ueber den Einfluß der schwefligen Säure auf Entwickelung und Haltbarkeit der Obstweine in Bd. XVII. No. 1/2 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. auf p. 19 im letzten Abschnitt soll es heißen: „mehr flüchtige Säure und Milchsäure" anstatt „als Milchsäure".

## Inhalt.

**Christensen, Harald R.**, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. (Forts.), p. 161.

**Cruchet, Paul**, Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées, p. 212.

**Fischer, Ed.**, Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen, p. 203.

**Harrison, F. C.**, A bacterial rot of the potato caused by Bacillus solanisaprus. (Continuation), p. 166.

**Hutchinson, H. B.**, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Forts.), p. 129.

**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen. (Forts.), p. 147.

**Krieg, Walther**, Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien, p. 208.

**Molz, Emil**, Ueber Bedingungen der Entstehung der durch Sclerotinia fructigena erzeugten „Schwarzfäule" der Aepfel, p. 175.

**Müller, Wilhelm**, Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum, p. 210.

**Saito, K.**, Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung. (Schluß), p. 152.

**Schellenberg, H. C.**, Ueber Sclerotinia Mespili und Sclerotinia Ariae, p. 188.

**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sporenpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. III. Mitteilung. (Forts.), p. 137.

**Corrigendum**, p. 224.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 8/10.

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung.

Von

Dr. **Ed. v. Freudenreich**, Vorstand des bakteriol. Laboratoriums der schweiz. landwirtschaftl. Versuchs- und Untersuchungsanstalten.

und

Dr. **Orla Jensen**, Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

Die seinerzeit von dem einen von uns ausgeführten chemischen Untersuchungen von Glarner Schabzieger [1]) haben gezeigt, daß in dieser Käsesorte bedeutend mehr Buttersäure, als von der Fettspaltung herrühren kann, vorhanden ist. Diese Tatsache mußte die Vermutung nahelegen, daß im Schabzieger eine wirkliche Buttersäuregärung stattfinde, und es war anzunehmen, daß diese Gärung wie auch der eigentliche Reifungsprozeß im frischen Zieger vor dem Mahlen und Formen desselben vor sich gehe und nicht später, wo die Käsemasse scheinbar nur noch ein langsames Trocknen erleidet. Die Richtigkeit der letzteren Annahme wurde durch Analyse von nur 12 Wochen altem, ungemahlenem Zieger bestätigt. Zwei solche Proben (I und II) ergaben Destillationszahlen (D. Z.) [2]) von 189 und 218. Da dieselben indessen viel wasserhaltiger als der früher untersuchte konsumfähige Schabzieger waren, muß man, um einen Vergleich zu ermöglichen, die Destillationszahlen der ersteren auf die Trockensubstanz des letzteren umrechnen. Ferner müssen die von der Fettspaltung herrührenden Säuremengen abgezogen werden. In der Tabelle I sind diese umgerechneten Zahlen angeführt. Diese Tabelle gibt auch die Menge des wasserlöslichen Stickstoffes (L. N.) und des mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffes (Z. N.) der drei zu vergleichenden Ziegerproben, in Prozent des Gesamtstickstoffes ausgerechnet, an.

---

1) Orla Jensen, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Diese Zeitschr. 1904. Bd. XIII. p. 755.)

2) In Analogie mit früheren Arbeiten bezeichnen wir mit „Destillationszahl" eines Käses die zur Neutralisation des von 100 g dieses Käses herrührenden Destillats nötige Anzahl ccm $\frac{n}{10}$ Lauge.

Was die Bestimmung der einzelnen flüchtigen Fettsäuren betrifft, siehe die oben zitierte Arbeit.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

| Zieger | D. Z. | Buttersäure | Propionsäure | Essigsäure | Ameisensäure | L. N. | Z. N. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I Vor dem Mahlen | 203 | 112 | 81 | Spur | 10 | 41,35 | 19,85 |
| II „ „ „ | 226 | 121 | 95 | Spur | 10 | 39,41 | 19,85 |
| III Konsumfähig | 227 | 51 | 123 | 53 | Spur | 37,35 | 16,58 |

Wie man sieht, sind sowohl die Buttersäuregärung als auch der eigentliche Reifungsprozeß ebensoweit vorgerückt im jungen wie im konsumfähigen Zieger, nur ist das Verhältnis zwischen den einzelnen flüchtigen Säuren nicht überall das gleiche. Dieser Unterschied rührt indessen von zufälligen Umständen her, ob die Buttersäuregärung mehr oder weniger rein verläuft oder ob sie von der in einer späteren Arbeit zu behandelnden Propion-Essigsäuregärung des milchsauren Kalkes begleitet ist.

In der vorliegenden Arbeit wollen wir uns hauptsächlich mit dem Ursprung der im Schabzieger durch Gärung gebildeten Buttersäure befassen, und wir haben es daher versucht, die bakteriologischen Vorgänge in dieser Käsesorte näher zu verfolgen.

Bevor wir jedoch zu diesen Untersuchungen übergehen, mag hier die Beschreibung der Herstellungsweise des Schabziegers kurz erwähnt werden: Als Rohmaterial wird abgerahmte oder (in neuerer Zeit) zentrifugierte Milch verwendet. Dieselbe darf nicht so sauer sein, daß sie sich beim Erhitzen scheidet. Sie wird über freiem Feuer in einem kupfernen Kessel zum Sieden erwärmt und dann mit kalter Buttermilch versetzt. Um nun die Milch zum Scheiden zu bringen, wird sie wieder erhitzt und mittels der Käsekelle mit sauren Schotten, Sauer, übergossen. Der Kessel wird vom Feuer gezogen und bald hat sich etwas Quark in den oberen Schichten abgeschieden, der sogenannte „Stichzieger", der abgehoben wird. Hierauf rührt man um und setzt wieder Sauer hinzu, bis sich aller Quark ausscheidet. Die Menge des zuzusetzenden Sauers hängt von dem vorherigen Säuerungsgrade der Milch und der Stärke des Sauers ab, so daß bestimmte Regeln sich nicht geben lassen. Der Quark wird nun mit durchlöcherten Kellen herausgenommen und zum Erkalten in Milchgebsen gelegt. Alsdann wird er in Fässer oder in Ermangelung solcher in Baumrinden gebracht und, mit Steinen beschwert, der Gärung bei einer Temperatur von 15—17° während 3—6 Wochen überlassen. Damit die Molken ablaufen können, sind die Fässer durchlöchert. Nach dieser Zeit wird der Quark in Säcke, die etwa 75 kg fassen, verpackt und den Schabziegerfabrikanten zugestellt. Von den letzteren wird der Quark bis zu seiner Verarbeitung unter Druck aufbewahrt. Die Verarbeitung geschieht auf den sogenannten Ziegermühlen, in welchen der Quarg zu einem feinen Brei gemahlen wird. Gleichzeitig setzt man ca. 5 Proz. Kochsalz und ca. 2,5 Proz. Ziegerkleepulver (Melilotus coerulea) zu, was dem Schabzieger zum Teil sein eigentümliches Aroma verleiht. Nach dem Mahlen wird die Masse in hölzerne konische Formen eingestampft, später herausgenommen, in den Ziegerspeichern, die sehr trocken und gut ventilierbar sind, langsam getrocknet und dann in den Handel gebracht.

Zur Untersuchung konnten wir uns folgende Proben verschaffen:

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

1) Frische Schabziegermasse. Dieselbe wurde am 17. August 1905 in einer Käserei auf einer Alp in der Nähe von Näfels von dem einen von uns entnommen und in sterilem Glas an das Laboratorium abgesandt, wo die Untersuchung gleich nach Ankunft in Angriff genommen wurde.

2) 2 Tage alter Schabzieger. Probeentnahme wie sub 1.

3) 6 Wochen alter Schabzieger.

4) 12 Wochen alter Schabzieger.

Diese beiden letzten Proben stammten von derselben Käserei wie sub 1.

5) Zwei andere, ebenfalls 12 Wochen alte Schabziegerproben, vom Fabrikanten, Herrn Peter Müller in Glarus, gefälligst zur Verfügung gestellt.

6) Fertiger Schabzieger, auf dem Markt in Bern gekauft.

Zum Zwecke der Isolierung der im Schabzieger vorhandenen Mikroorganismen wurden Gelatineplatten und Peptonschottenagarschüttelkulturen in langen Röhren nach Burri angelegt. Um etwaige vorhandene Sporenbildner, aërobe und anaërobe, leichter aufzufinden, wurde die Schabziegeremulsion noch auf 80—90° während 5 Minuten erwärmt und wurden nochmals Platten und Schüttelkulturen angelegt. In letzterem Falle wurde die erste Platte und die erste Schüttelkultur gewöhnlich mit wenigstens 5 Tropfen der gewärmten Emulsion geimpft.

### A. Frischer Schabzieger (bei der Untersuchung 2 Tage alt).

Mikroskopische Präparate zeigen Bacterium lactis acidi.

Die Kulturen, sowohl die Gelatineplatten wie die Agarröhren, gaben vorwiegend Bact. lactis acidi, daneben auch Bac. lactis aërogenes und Kolonieen eines verflüssigenden, zur Gruppe des Proteus gehörenden Bacillus. Buttersäurefermente und Tyrothrixbacillen waren nicht nachweisbar, auch nicht in den aus der erwärmten Emulsion hergestellten Kulturen.

### B. 2 Tage alter Schabzieger (bei der Untersuchung 4 Tage alt).

In den Präparaten Bact. lactis acidi nebst Bacillen zu sehen.

Die Kulturen geben wieder vorwiegend Bact. lactis acidi nebst dem obgenannten verflüssigenden Bacillus. Daneben Bac. lactis aërogenes und Hefen.

Buttersäurebacillen und Tyrothrixbacillen wiederum nicht nachweisbar.

### C. 6 Wochen alter Schabzieger.

Das mikroskopische Präparat gewährt nun ein ganz anderes Bild. Bact. lactis acidi ist sehr selten geworden, dagegen sieht man dünne Bacillen und andere den Buttersäurebakterien ähnliche Bacillen mit Sporen.

Die Gelatineplatten geben in der Hauptsache Bact. lactis acidi, daneben Bac. lactis aërogenes und einige Kolonieen des Proteus Zopfii.

Zählungen ergeben 38500000 Bakterien per Gramm, wovon zirka 1 Million Aërogenes, der Rest Bact. lactis acidi.

Die Agarröhren geben zwischen 25000000—50000000 Kolonieen per Gramm, wovon ca. 2000000 durch einen Buttersäurebacillus repräsentiert sind. Die erste Röhre war total zerrissen und hatte Buttersäuregeruch.



Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Auch die mit der erwärmten Emulsion hergestellten Agarröhren waren total zerrissen und gaben den gleichen Buttersäurebacillus, ca. 500 000 per Gramm. Die geringere Zahl rührt in diesem Falle jedenfalls davon her, daß infolge der Erwärmung nur die Sporen am Leben bleiben. Tyrothrix-Bacillen dagegen waren nicht nachweisbar.

Die im Präparat sichtbar gewesenen dünnen Bacillen konnte man nicht isolieren, indem sie neben den anderen nicht zur Entwickelung kamen. Wahrscheinlich waren es Bacillen der Gruppe des Bac. casei $\varepsilon$ oder $\delta$, da solche im 12 Wochen altem Schabzieger gefunden wurden.

## D. 12 Wochen alter Schabzieger.

1) Schabzieger der Käserei bei Näfels.

Die Gelatineplatten geben außer einigen Kolonieen des Proteus Zopfii nur Bac. casei $\alpha$ und $\delta$ ähnliche Stäbchen, ca. 150 000 000 per Gramm. Keine Tyrothrix-Bacillen.

Die Agarröhren geben noch größere Mengen dieser Milchsäurefermente nebst Streptokokken. Auch Bac. casei $\varepsilon$ konnte gefunden werden.

Buttersäurebacillen konnten nur aus der erwärmten Emulsion isoliert werden; in dieser waren sie aber sehr zahlreich, denn alle Röhren waren total zerrissen.

2) Schabzieger von Herrn Müller in Glarus (zwei Proben).

Erste Probe:

Gelatineplatten: 65 000 000 Bakterien per Gramm; Bact. lactis acidi und $\alpha$ ähnliche Stäbchen.

Die Agarröhren geben Bac. casei $\alpha$, Bac. casei $\varepsilon$ und einen Buttersäurebacillus.

Die erwärmte Emulsion gibt nur den Buttersäurebacillus. Alle Röhren waren zerrissen, so daß eine Zählung nicht möglich war.

Zweite Probe:

Gelatineplatten: ca. 6 000 000 Bakterien per Gramm; ein $\alpha$ ähnliches Stäbchen.

Agarröhren: ca. 25 000 000 Bakterien per Gramm; meist Bac. $\alpha$ und $\varepsilon$ ähnliche Stäbchen. In der ersten Röhre waren auch 33 Kolonieen eines Buttersäurebacillus vorhanden, was 330 000 per Gramm entsprechen würde.

Die erwärmte Emulsion gab 3 500 000 Buttersäurebacillen per Gramm.

## E. Fertiger Schabzieger (auf dem Markt gekauft).

Die Gelatineplatten geben ca. 100 000 Kolonieen Bact. lactis acidi per Gramm, sonst nichts.

Die Agarröhren geben mindestens 33 500 000 Buttersäurebacillen per Gramm. Die mit der erwärmten Emulsion hergestellten Agarröhren waren alle total zerrissen.

Die Resultate dieser bakteriologischen Untersuchungen bestätigen somit ganz und gar die eingangs erwähnte, auf den Resultaten der chemischen Analyse fußende Vermutung einer Buttersäuregärung im Schabzieger, denn sowohl im fertigen konsumfähigen als in dem am Ende seiner Gäruugsperiode befindlichen Schabzieger haben wir ganz bedeutende Mengen von Buttersäurebacillen gefunden. Diese Resultate zeigen auch,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie wenig begründet die Meinung Rodellas[1]) ist, der die vielfach negativen Resultate, welche manche Forscher mit Bezug auf das Vorhandensein streng anërober Buttersäurebakterien im Käse erhielten, auf unzulängliche Züchtungsmethoden zurückführen möchte. Bei diesen Untersuchungen haben wir uns zur Isolierung der anaëroben Bakterienarten der gleichen Methode bedient, welche der eine von uns bei seinen Emmentalerkäseuntersuchungen verwendet hat, nämlich der Burrischen Molkenagarschüttelkulturen. Daß diese Methode genügend zuverlässig ist, zeigen die Resultate, denn wir haben mit Leichtigkeit die Gegenwart der vorhandenen zahlreichen Buttersäurebacillen nachweisen können. Findet man daher mittels dieser Methode nur wenige streng anaërobe Buttersäurebacillen in einem Käse, so ist nur der Schluß gerechtfertigt, daß sie in demselben nicht zahlreich sind und somit keine nennenswerte Rolle bei der Reifung spielen können.

Es entsteht nun die Frage, wie es denn kommt, daß diese Buttersäurebacillen sich im Schabzieger so reichlich entwickeln, während in anderen Käsesorten, wie z. B. im Emmentalerkäse, von einer Vermehrung derselben nichts zu merken ist. Die Ursache könnte entweder in der chemischen Zusammensetzung des Schabziegers oder in der Fabrikationsweise zu suchen sein.

Was das erstere betrifft, so ist daran zu erinnern, daß die Eiweißstoffe des Schabziegers aus Kasein und Lactalbumin bestehen, die des Emmentalerkäses dagegen nur aus Parakasein. Da wir es als nicht unwahrscheinlich betrachteten, daß Lactalbumin wegen seiner Verwandtschaft mit dem Hühnereiweiß ein besserer Nährboden für die Buttersäurebacillen sein könnte als Kasein oder Parakasein, so kultivierten wir diese Bacillen in einer Nährsalzlösung mit einer reichlichen Menge möglichst gut ausgewaschenen Lactalbumins. Stets trat eine Buttersäuregärung auf, weil das Albumin nie ganz milchzuckerfrei war, aber dieser Eiweißstoff selber wurde nicht angegriffen. Wir glauben daher eher, daß die Ursache der Entwickelung der Buttersäurebacillen im Schabzieger der hohen Erwärmung der Milch bei der Fabrikation zuzuschreiben ist. Durch dieselbe werden nämlich die in jeder Milch vorhandenen Sporen der Buttersäurebacillen nicht abgetötet, dagegen aber die Milchsäurefermente vernichtet. Mit den sauren Molken werden zwar wieder neue Milchsäurebakterien zugeführt, da aber im Augenblicke des Eingießens der sauren Molken die Milch noch ganz heiß ist, werden wohl wieder die meisten derselben abgetötet oder mindestens stark abgeschwächt. Es kann daher in den ersten Stunden keine so starke Milchsäuregärung stattfinden wie im Emmentalerkäse, zumal, wie die bakteriologischen Analysen zeigen, zunächst nur Bact. lactis acidi, das zu den schwächeren Milchsäuregärungserregern gehört, zur Entwickelung kommt. Die Verhältnisse sind somit ganz verschiedene in diesen beiden Käsearten. Die Milch, aus der der Emmentalerkäse bereitet wird, ist an sich reich an Milchsäurebakterien, dazu kommen noch die Milliarden der besonders kräftigen Milchsäurebildner, die mit dem Naturlabe zugesetzt werden (speziell Bac. casei $\varepsilon$). Infolgedessen hat die Milchsäuregärung in dieser Käseart bereits nach einigen Stunden ihren Kulminationspunkt erreicht[2]). Bevor die Butter-

1) Diese Zeitschr. Bd. X. p. 499 u. 753. Bd. XI. p. 452. Bd. XII. p. 82.
2) Orla Jensen, Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Milchsäuregärung. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz.)

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

säurebacillen sich entwickeln können, ist daher der Nährboden von lebenskräftigen Milchsäurebildnern ganz in Besitz genommen.

Im Zusammenhang hiermit mag erinnert werden, daß auch in anderen Sauermilchkäsen Buttersäurebacillen gefunden wurden, so von v. Klecki[1]) in dem von ihm untersuchten Quargelkäse (Bac. saccharobutyricus).

Da die bakteriologischen Analysen der Schabziegerproben stets auch die Gegenwart von Milchsäurebakterien ergeben hatten, so wurden folgende Versuche angestellt, um festzustellen, wie sich unsere Buttersäurebacillen in Symbiose mit Milchsäurebakterien verhalten.

Eine Flasche sterile Vollmilch wurde gleichzeitig mit je 5 Tropfen einer gut entwickelten Schottenkultur von Bact. lactis acidi und dem aus jungem Schabzieger isolierten Buttersäurebacillus geimpft. Nach 24 Stunden bei 35° starke Buttersäuregärung, in den Präparaten die beiden eingeimpften Mikroorganismen nachweisbar.

Eine Flasche sterile Vollmilch wurde zunächst mit Bact. lactis acidi geimpft und erst nach Gerinnung der Milch 5 Tropfen Schottenkultur des Buttersäurebacillus eingesät. Gärung war bei 35° nicht sichtbar. In den Präparaten Bact. lactis acidi und Buttersäurebacillen.

Eine Flasche sterile Vollmilch mit Bac. casei ε und dem Buttersäurebacillus (je 5 Tropfen) geimpft und bei 35° aufbewahrt. Starke Buttersäuregärung nach 24 Stunden. Beide Bacillenarten in den Präparaten nachweisbar.

Eine Flasche sterile Vollmilch zunächst mit Bac. casei ε geimpft und erst nach Gerinnung den Buttersäurebacillus eingesät. Gärung war nicht sichtbar.

Dagegen trat in einer anderen Flasche, die zunächst mit Bac. casei ε und Bact. lactis acidi geimpft worden war und nach eingetretener Gerinnung den Buttersäurebacillus erhalten hatte, am anderen Tage Gärung ein.

Eine Wiederholung des Versuches mit Bact. lactis acidi ergab wiederum starke Gärung bei gleichzeitiger Einimpfung beider Mikroorganismen, dagegen scheinbares Ausbleiben derselben, als der Buttersäurebacillus erst nach Gerinnung eingesät wurde.

Auch bei 20° wurde der Versuch mit Bact. lactis acidi und dem Buttersäurebacillus durchgeführt:

Eine Flasche sterile Vollmilch mit Bact. lactis acidi und Buttersäurebacillus gleichzeitig geimpft. Die Milch gerinnt mit Rissen und hat Buttersäuregeruch. Gas entwich beim Oeffnen der Flasche nicht, aber es zeigte sich, daß der Verschluß nicht ganz dicht war.

Eine Flasche sterile Vollmilch zunächst mit Bact. lactis acidi geimpft und erst nach Gerinnung den Buttersäurebacillus eingesät. Buttersäuregärung war nicht sichtbar.

Es zeigen diese Versuche, daß die Buttersäurebacillen trotz der Gegenwart der Milchsäurefermente sich ganz gut entwickeln können, wie dieses auch im Schabzieger der Fall ist. Wenn jedoch den Milchsäurefermenten Gelegenheit gegeben wird, sich zuerst zu entwickeln, so daß sie das Feld beherrschen, so tritt in der Regel die gewohnte stürmische Gärung nicht mehr auf. Aber auch in diesem Falle findet, trotz dem Ausbleiben einer sichtbaren Gasentwickelung, eine langsame Entwickelung der Buttersäurebacillen statt, denn die chemische Analyse zeigt auch in

1) Diese Zeitschr. Bd. VIII. 1902. p. 711.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

solchen Mischkulturen, in welche der Buttersäurebacillus erst nachträglich eingeimpft wurde, das Vorhandensein von Buttersäure. Die Flasche, die gleichzeitig mit dem Buttersäurebacillus und Bact. lactis acidi geimpft worden war, hatte nämlich eine Destillationszahl von 18 und einen Säuregrad (ccm $\frac{n}{4}$ Lauge in 100 ccm Filtrat) von 27,2, und die erst nachträglich mit dem Buttersäurebacillus geimpfte Flasche eine Destillationszahl von 16,5.

Die gleichzeitig mit Bac. casei ε und dem Buttersäurebacillus geimpfte Flasche hatte eine Destillationszahl von 16 und einen Säuregrad von 89,6; bei nachträglicher Einimpfung des Buttersäurebacillus war die Destillationszahl 14,5 und der Säuregrad 86,4. Die flüchtigen Fettsäuren bestanden aus 1 Teil Buttersäure und 10 Teilen Essig- und Propionsäure.

Diese Resultate stehen auch keineswegs im Widerspruche mit der Begründung, die wir weiter oben für das Ausbleiben einer Buttersäuregärung im Emmentalerkäse gegeben haben. In diesem ist nämlich von Anfang an nur wenig Zucker vorhanden und derselbe wird durch die rasch eintretende Milchsäuregärung verbraucht, wodurch der Nährboden für die Buttersäurebacillen ungünstig gestaltet wird; der in der Milch vorhandene Milchzucker ist dagegen nach der eingetretenen Gerinnung noch lange nicht verbraucht, und es können sich daher die nun eingesäten Buttersäurebacillen weiter entwickeln, wenn auch langsamer, als wenn sie gleichzeitig mit den Milchsäurefermenten eingeimpft werden.

Bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse über die Gruppe der anaëroben Buttersäurebacillen ist eine genaue Identifizierung der in diesen verschiedenen Schabziegerproben gefundenen Bacillen sehr schwer. Die kulturellen Merkmale sind so veränderlich und die zu Tage tretenden Differenzen oft so geringfügig, daß es oft schwer ist, zu entscheiden, ob zwei Stämme identisch oder nur Varietäten derselben Art sind.

Alle aus den Schabziegerproben isolierten Stämme waren beweglich, sie gehören also in die Gruppe des beweglichen Buttersäurebacillus, in welche auch der Kleckische Bac. saccharobutyricus von Grassberger und Schattenfroh eingereiht wird.

Zwischen den aus den 6 und aus den 12 Wochen alten Proben isolierten Stämmen konnten wir keine morphologischen und kulturellen Unterschiede finden. Sie wurden daher als identisch angesehen und als „Buttersäurebacillus aus jungem Schabzieger“ bezeichnet. Der aus der Marktprobe isolierte Stamm zeigte im allgemeinen die gleichen kulturellen Merkmale, wenn auch hie und da das Bild ganz kleine Abweichungen zeigte. Wir bezeichneten diesen Stamm als „Buttersäurebacillus aus altem Schabzieger“. Wir lassen die Hauptmerkmale hier folgen: Im Peptonschottenagarstich entwickeln sich diese Bacillen sehr gut. Bei 35 und 30° ist nach weniger als 24 Stunden der Agar bereits zerrissen und mit Gasblasen durchsetzt. Bei 20° ist die Gasbildung weniger stürmisch, nach 4—5 Tagen jedoch ist die Agarsäule auch zerrissen.

In den Peptonschottenagarschüttelkulturen hat man scheibenförmige, oft auch unregelmäßig geformte weißlichgelbe Kolonieen. Sind sie zu zahlreich, so wird natürlich die ganze Agarsäule zerrissen, bevor man die einzelnen Kolonieen untersuchen kann.

Die Präparate zeigen gerade Bacillen mit abgerundeten Enden, 2—6 $\mu$ lang und ca. 1 $\mu$ dick. Einige Tage alte Kolonieen zeigen bereits viele Clostridium-Formen mit Sporen. Die Clostridien sind 2 $\mu$ und

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

mehr breit. Außer den Clostridien sieht man auch Bacillen, bei welchen die Spore meist am Ende des Bacillenleibes sich befindet, der hier verdickt ist, so daß eine Keulenform entsteht. Die Spore kann aber auch mehr in der Mitte liegen. Geißelfärbungen nach den Methoden von W. Kuntze[1]) ließen peritrich angeordnete Geißeln erkennen, die Färbung ist aber sehr schwierig und gelang nur sehr unvollkommen. Nach Gram sind diese Buttersäurebakterien färbbar, aber nur wenn sie aus jungen Kulturen stammen. Präparate aus älteren Kulturen entfärben sich ganz.

Auch auf Peptonschottenagarplatten bei Luftabschluß ist das Wachstum der beiden Stämme sozusagen gleich. Wir notierten folgende Merkmale:

Buttersäurebacillus aus jungem Schabzieger: weißlichgelbliche, rundliche, auch scheibenförmige Kolonieen im Innern des Agars; bei schwacher Vergrößerung gelbbräunlich. Die Oberflächenkolonieen rund, grauweiß, bei schwacher Vergrößerung gelbbräunlich, fein gekörnt, aber abwechselnd mit helleren und dunkleren Partieen. Zentrum dunkler. Buttersäuregeruch ausgesprochen. Präparate zeigen Bacillen mit meist am Ende liegenden Sporen, dagegen keine Clostridien.

Buttersäurebacillus aus altem Schabzieger: im Innern des Agars weißgelbliche, rundliche Kolonieen, auch scheibenförmig; bei schwacher Vergrößerung dunkler. Die Oberflächenkolonieen sind gelblichbraun, bei schwacher Vergrößerung rund, gekörnt, mit dunklerem Zentrum. Agar stellenweise mit Blasen durchsetzt. In den Präparaten aus solchen Kolonieen viel freie Sporen, Bacillen mit und ohne endständige Sporen, auch Clostridienformen. Ausgesprochener Buttersäuregeruch auf den Platten.

Auf Kartoffeln, anaërob im Omelianskischen Apparate gezüchtet[2]), bilden beide Stämme weiße punktförmige Kolonieen längs dem Impfstriche. Während die Präparate der Kultur des Buttersäurebacillus aus altem Schabzieger lange Fäden und Sporen zeigten, enthielt die Kultur des Bacillus aus jungem Schabzieger mehr deformierte Stäbchen.

In gewöhnlicher Nährgelatine (Stichkultur) wachsen diese Organismen sehr schwach, perlschnurartig im Stiche. Bei einigen Kulturen zeigten sich Ausstrahlungen von einem Punkte ausgehend, die wie Fadenknäuel aussahen.

In flüssigen Nährmedien, wie Schotten, einfach in Flaschen mit Patentverschluß gefüllt, hat man je nach der Temperatur eine mehr oder weniger starke Gasbildung, die bis zur Sprengung der Flasche führen kann, wenn diese nicht rechtzeitig geöffnet wird.

Milchsauren Kalk in Peptonbouillon gelöst, scheinen unsere Buttersäurefermente, wie auch dasjenige von Klecki, nicht angreifen zu können.

In der Milch wachsen sie mit Vorliebe, weshalb wir auch die Milchkulturen zum Studium der chemischen Leistungen dieser Bakterien verwendeten. Um die Milch von der Luft abzusperren, wurde sie mit flüssigem Paraffin überschichtet. Bei 37° trat schon in 12—24 Stunden eine stürmische Gärung auf. Die Kulturen wurden jedoch gewöhnlich erst nach 5 Wochen untersucht. In den Fällen, in welchen Kreide zugesetzt und öfters geschüttelt war, sah die Milch unverändert aus, in den Kulturen ohne Kreide war dagegen wegen der Säurebildung das Kasein ausgeschieden. Von jedem der zwei Stämme wurden zwei Kulturen mit

1) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1902. p. 555.
2) Diese Zeitschr. Bd. VIII. 1902. p. 711.

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Kreide und eine Kultur ohne Kreide analysiert. Die Resultate dieser Analysen sind in der Tabelle II zusammengestellt. Mit den „gebildeten Mengen" L. N. und Z. N. werden die gefundenen Mengen minus den in der ursprünglichen Milch schon vorhandenen entsprechenden Stickstoffmengen verstanden.

Tabelle II.

| Buttersäurebacillus | Milch | Erhöhung des Säuregrades | D. Z. | Buttersäure | Propionsäure | Ameisensäure | Gebildete Mengen | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | L. N. | Z. N. |
| Aus jungem Zieger | Mit Kreide | | 74 | 39,0 | 28,0 | 7,0 | | |
| „ „ „ | „ „ | | 80 | 39,0 | 33,5 | 7,5 | 2,85 | 3,34 |
| „ „ „ | Ohne Kreide | 51 | 51 | | | | 1,53 | 2,00 |
| Aus altem Zieger | Mit Kreide | | 130[1] | 40,0 | 68,0 | 22,0 | 1,37 | 2,08 |
| „ „ „ | „ „ | | 184 | 50,0 | 94,0 | 40,0 | 2,24 | 2,72 |
| „ „ „ | Ohne Kreide | 63 | 58 | | | | 0,00 | 0,46 |

Diese Zahlen zeigen, daß unsere zwei Buttersäurefermente das Kasein der Milch nur sehr schwach, den Milchzucker dagegen ziemlich kräftig angreifen. Der Umstand, daß in der Milch ohne Kreide die Erhöhung des Säuregrades fast vollkommen mit der Destillationszahl übereinstimmt, beweist, daß die vorliegenden Bakterien in dieser Flüssigkeit keine nichtflüchtigen Säuren bilden. Die entstandenen flüchtigen Säuren bestehen aus Buttersäure, Propionsäure und Ameisensäure. Der Bacillus aus altem Zieger bildet besonders viel von den zwei letzteren Säuren und ist im ganzen ein viel kräftigeres Ferment als derjenige aus jungem Zieger.

Da unsere Buttersäurebacillen die einzelnen flüchtigen Säuren in einem ähnlichen Verhältnis bilden wie sie im Schabzieger vorkommen, so ist es nicht zu bezweifeln, daß diese Bakterien oder verwandte Formen auch wirklich hier die Hauptrolle bei der Säurebildung spielen. Mit dem eigentlichen Reifungsprozeß haben sie dagegen kaum etwas zu tun, weil sie die Eiweißstoffe (wenigstens die sterilisierten) nur sehr schwach angreifen können. Die Buttersäuregärung im Schabzieger, oder richtiger gesagt, die Butter-Propion-Ameisensäuregärung [2]) ist eher, so wie es auch mit der Propion-Essigsäuregärung im Emmentalerkäse der Fall zu sein scheint, nur eine vom eigentlichen Reifungsprozeß unabhängige Begleiterscheinung, die jedoch für die Aromabildung von Bedeutung ist.

1) Diese Kultur war zur Zeit der Untersuchung nur 3 Wochen alt, deshalb ist die Destillationszahl kleiner als in der anderen Kultur, die 5 Wochen alt war.

2) Es dürfte überhaupt zweifelhaft sein, ob es Bakterien gibt, die mit Milchzucker als Kohlenstoffquelle eine reine Buttersäuregärung hervorrufen können. Erst durch genaues Studium der Gärungsprodukte sämtlicher sogenannten Buttersäurebakterien sowohl nach der Silbersalzmethode als auch nach der von dem einen von uns näher ausgearbeiteten Duclauxschen Methode kann diese Frage endgültig gelöst werden. Sich nur der einen dieser Methoden zu bedienen, wie es die meisten Forscher bis jetzt getan haben, ist absolut ungenügend. Die erstere Methode ist hauptsächlich eine qualitative und die andere hauptsächlich eine quantitative, so daß erst durch gleichzeitige Verwendung beider Methoden sich sichere Schlüsse ziehen lassen.

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

# Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

Annual Report of the Imperial Department of Agriculture for the year 1904—05. Calcutta.

Es mag verwunderlich erscheinen, daß gerade in Indien, wo die Hauptinteressen auf dem Gebiete der Landwirtschaft liegen, die Organisation derselben gegenüber anderen Zweigen der Kultur zurückgeblieben ist.

Erst in den letzten Jahren, nachdem energische und kenntnisreiche Männer sich mit diesen wichtigen Zweigen des indischen Wirtschaftslebens abgegeben haben, ist eine neue Entwickelung darin zu bemerken.

Zu diesem Aufschwung haben die verschiedenen schweren Schicksalsschläge, die über Indien gekommen sind, viel beigetragen. Nach der Hungersnot in Bengal und Orissa im Jahre 1866 wurde auf Anraten der Kommission, welche deren Ursachen zu untersuchen hatte, eine landwirtschaftliche Abteilung bei der indischen Zentralregierung im Jahre 1871 gegründet. Diese wurde jedoch am Ende der 70er Jahre wegen Mangel an den nötigen Geldern wieder aufgehoben.

Zu einer besseren Ausgestaltung des landwirtschaftlichen Versuchswesens kam es erst im Jahre 1901, als Lord Curzon mit Hilfe der beträchtlichen Spende des Amerikaners Phipps im Einverständnis mit dem Geber eine große landwirtschaftliche Versuchsanstalt gründete.

Die Zentralregierung und die Provinzialregierungen besitzen jetzt einen Stab von 22 Sachverständigen, und es besteht die feste Absicht, diese Zahl zu vermehren.

Ueber die jetzige Organisation der Landwirtschaftsbehörden und die große Entwickelung, die sie erfahren hat, gibt besonders der Bericht des Landwirtschaftsdepartements (Annual Report of the Imperial Department of Agriculture for the year 1904—05) für das Jahr 1904—05 nähere Angaben.

Ich entnehme hier die Tatsachen, welche sich auf den Pflanzenschutz beziehen.

Erfreulicherweise hat man sich in den letzten Jahren in Indien mehr dem Studium der Pflanzenkrankheiten zugewandt. Es ist besonders Dr. Buttler, dem „cryptogamic botanist to the Government of India“ zu verdanken, daß auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten viele Untersuchungen gemacht worden sind. Die meisten Krankheiten, sowie ihre Bekämpfung sind von Buttler beschrieben worden.

In dem Jahresbericht des Landwirtschaftsdepartements für das Jahr 1904—05 gibt er eine zusammenfassende Beschreibung der aufgetretenen Krankheiten.

Die Kartoffelkrankheit, von Phytophthora infestans verursacht, hat großen Schaden angerichtet. Sie ist vorherrschend im Himalayagebiet von Bhutan im Osten bis Simla im Westen. Die „Bangdi“ genannte Krankheit tritt besonders in Bombay auf. Höchstwahrscheinlich wird es die „Schwarzbeinigkeit“ sein, welche bei uns auch stellenweise aufgetreten ist und durch Bakterien verursacht wird. Nähere Angaben über diese Erkrankungen finden sich im „Agricultural Ledger“ 1903.

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Das Studium des Weizenrosts, wahrscheinlich eine der gefährlichsten Krankheiten in Indien, wurde im Jahre 1903 angefangen. Es wurden drei Rostarten gefunden, nämlich der schwarze Rost durch Puccinia graminis, der gelbe Rost durch P. glumarum und der orangefarbene Rost durch P. triticina verursacht. Ihre Verbreitung wurde genau studiert, und weiter untersucht, auf welchen Pflanzen sie noch vorkommen. Das Aecidiumstadium des schwarzen Rostes, welches von Barclay auf Simla-Berberitzen beschrieben worden ist, konnte im Osten noch in Nilgiris gefunden werden. Der Berberitzenrost dieser Gegenden steht mit dem Weizenrost nicht in Zusammenhang.

Der gelbe Rost wurde auf zwei Grasarten gefunden, Phalaris minor und Brachypodium sylvaticum und nach Barclay kommt der schwarze Rost in Simla auf Brachypodium distachyum vor. Das Aecidium auf Launea asplenifolia, welches von Cunningham und Prain im Jahre 1896 beschrieben worden ist und wovon angenommen wurde, daß es mit dem orangefarbenen Rost in Zusammenhang steht, scheint nach den Untersuchungen nicht dazu gehörig. Festgestellt konnte werden, daß sowohl der schwarze als der gelbe Weizenrost in einigen Fällen auf Gerste übergehen kann. Der orangefarbige Rost konnte nicht mit Erfolg auf Gerste geimpft werden und keiner der drei ließ sich auf Hafer übertragen.

Es wurden weiter über 70 parasitische Uredineen bestimmt, einzelne dieser sind gefährliche Parasiten. Unter die wichtigeren Arten gehören juar-Rost (Puccinia purpurea), bajra-Rost (P. Penniseti), Leinrost (Melampsora Lini), Rost auf Indigo, Lucerne etc. (Species von Uromyces), viele Peridermium-Arten auf Coniferen, Teakholzrost (Uredo Tectonae), Ricinusrost (Melampsorella Ricini) etc. Der juar- und bajra-Rost sind nach Barclay identisch und als Puccinia Penniseti beschrieben worden. Sie unterscheiden sich aber in vielen wichtigeren Punkten und müssen wohl als zwei verschiedene Species betrachtet werden.

Unter den Zuckerrohrkrankheiten ist die wichtigste der „Rotrotz“, welche durch Colletotrichum falcatum verursacht wird, und besonders an der Ostküste und in Bengalen verheerend gewirkt hat. In Behar und Dehra Dun wurde im Jahre 1903/04 Sphaeronema adiposum gefunden. Die Entwickelung dieses Pilzes wurde genauer studiert und es konnte festgestellt werden, daß der Pilz abgeschnittene Zuckerrohrstengel im Laboratorium schnell zum Verfaulen brachte. Der Pilz, welcher Stecklinge befällt, konnte in verfaulten Stecklingen von Dehra Dun in 61 Fällen nachgewiesen werden, während als weitere Ursachen Diplodia cacaoicola und Schizophyllum commune gefunden werden konnten.

Die „Ananaskrankheit“, durch Thielaviopsis ethaceticus verursacht, trat in Indien nicht auf. Um dem Einwandern dieser Krankheiten vorzubeugen, traf man bestimmte Verordnungen für den Import von Zuckerrohr aus anderen Ländern.

Die chemische Untersuchung der durch Calletotrichum falcatum und Sphaeronema adiposum erkrankten Zuckerrohrstengel ergab, daß durch beide Pilze zuckerinvertierende Fermente ausgeschieden werden, welche nicht diffundierbar sind, sondern in den Zellen des Pilzes bleiben.

Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Eine Krankheit von Santalum album, „Spike disease“ genannt, trat in den Jahren 1902, 1903 und 1904 in den Sandelholzkulturen von Mysore und Coorg auf; es gelang jedoch nicht die Ursache dieser Erkrankung festzustellen. Parasiten konnten nicht gefunden werden.

Erkrankungen von Tee und Kaffee wurden in Assam, Dehra Dun und Südindien beobachtet. Die meist gefürchtete Erkrankung des Teestrauches ist eine Alge, Cephaleuros virescens. Letztere wurde häufig auf verschiedenen anderen Bäumen und Sträuchern beobachtet, so daß sie ohne Zweifel von diesen auf die Teesträucher übergehen kann. Eine Bespritzung mit Bordeauxbrühe soll als Bekämpfungsmittel nützlich sein. Eine Wurzelerkrankung wird sowohl bei Kaffee als auch bei Tee von verschiedenen Arten der Gattung Rosellinia verursacht. Da die erkrankten Wurzeln leicht andere infizieren können, müssen sie verbrannt werden. Die Sporenbildung ist nicht häufig, und scheint also in der Erkrankung keine wesentliche Rolle zu spielen. Eine andere Wurzelkrankheit des Tees wird durch Diplodia verursacht.

Kürzlich ist eine schwere Erkrankung des Kaffees in Nilgiris und Neliampathies aufgetreten. Sie ist dadurch charakterisiert, daß die Zweige absterben, die Blätter abfallen und die Beeren verfaulen. Als Ursache wird ein Pilz, Gloeosporium, angesehen.

Im nördlichen Teile von Indien wurde eine Krankheit von Cajanus indicus beobachtet, welche „Tur wilt“ genannt wird. Die Krankheit äußert sich in einem Vertrocknen der Pflanze. Die Ursache wurde im Jahre 1902 festgestellt; es handelte sich um Nectria.

Die Krankheit des Pfeffers, welche an der Malabarküste endemisch zu sein scheint, wird nach den Untersuchungen wahrscheinlich von derselben Nectria verursacht, welche auch die Krankheit des Cajanus indicus hervorruft.

Eine andere Pfefferkrankheit, welche in Mysore schon mehrere Jahre bekannt ist, wird von einem Pilz der Gattung Rosellinia verursacht, die Species ist R. bunodes, welche bis dahin noch nicht für einen Parasiten galt.

Eine Krankheit der Erdnußblätter, „tikka“ genannt, ist besonders in Bombay und Madras aufgetreten. Sie wird von Septogloeum Arachidis hervorgerufen und wurde zuerst auf Java im Jahre 1898 beobachtet, weiter ist sie auch in Deutsch-Ost-Afrika gefunden worden.

Die befallenen Blätter, welche frühzeitig abfallen, zeigen schwarze Flecken, welche von einem gelben Rande umgeben sind. Bespritzungsversuche mit Bordeauxbrühe haben kein definitives Resultat ergeben.

In den 3 letzten Jahren sind verschiedene Krankheiten der Obst- und Waldbäume untersucht worden. Viel Schaden litten die Zedern in Jaunsar durch einen Wurzelpilz, Fomes annosus. Die Entwickelung, Verbreitung und die zerstörende Wirkung wurden genauer studiert. Eine Beschreibung dieses Pilzes findet sich im Indian Forester, 1903. Peridermium Cedri richtete ebenfalls großen Schaden unter den Zedern an, besonders unter den jungen Pflanzen. Bei Simla wurde Trametes Pini auf Pinus excelsa gefunden. Die Casuarinenpflanzungen an der Ostküste litten unter einem parasitischen Pilz der Gattung Trichosporium, welcher besonders den unteren Teil des Baumes befällt. Weiter wurden noch die Kräuselkrankheit der Pfirsiche festgestellt, Blattkrankheiten der Mango und anderer Obstbäume.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Poona und Shillong traten an den Reben Oidium und Sphaceloma ampelinum auf.

Zwei Erkrankungen der Betelpalme wurden untersucht. In Mysore trat im Jahre 1903 eine Krankheit auf, welche Koleroga genannt wird und wovon die Ursache wahrscheinlich Phytophthora ist. In Sylhet zeigte sich eine Krankheit in verheerender Weise, sie wurde im Mai 1905 an Ort und Stelle studiert. Eine Bestimmung des Pilzes, welcher den unteren Teil des Baumes befällt, war noch unmöglich. Die Bekämpfung ist eine sehr schwierige, so daß ein großer Verlust an Bäumen zu befürchten ist. v. Faber (Berlin).

---

# Referate.

**Fischer, Hugo,** Ueber Giftpilze und ihre Gifte. (Sitz.-Ber. der niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde zu Bonn. 1904. p. 42—92.)

Allgemeines über die Gifte der Pilze. Genauer befaßt sich Verf. mit dem Zweck der Pilzgifte. 1) Der Zweck derselben ist nach unserer jetzigen Kenntnis nicht einzusehen. Schnecken, Käferlarven und Fliegenmaden durchlöchern die giftigen Hutpilze und verschleppen die Sporen. 2) Gifte entstehen überall dort, wo Eiweißkörper zerfallen, also auch in älteren Pilzen. Sehr auffällige Aeußerungen von Enzymwirkung sind z. B. die Auflösung ganzer Gewebskörper, etwa die Gleba der Phallineen oder des ganzen Fruchtkörpers des Coprinus. Bei solchem Zerfalle entstehen aber auch bei giftlosen Pilzen stets giftige Spaltungsprodukte. Es ist noch nicht entschieden, ob dabei nur allein die Enzyme des Fruchtkörpers die Ursache des Zerfalles sind, oder ob und inwieweit Bakterien mitwirken. Letzteres ist nicht ausgeschlossen, ersteres wohl möglich. Junge „Giftpilze" sind oft für Tier und Mensch gänzlich unschädlich. 3) Wie jede Lebensäußerung, so ist auch das Entstehen der Gifte von klimatischen und ähnlichen Einflüssen abhängig, so daß ein Pilz in dem einen Lande giftiger sein kann, als in einem anderen, daß vielleicht auch nicht in allen Jahren die Giftproduktion die gleiche ist. — Es läßt sich also nur sagen: Die Pilzgifte entstehen, weil die Ursachen ihres Entstehens da sind, und die Eigenschaft der Giftigkeit konnte sich erhalten, obwohl sie den Pilzen nichts nützt, weil sie ihnen auch nichts schadet. Der Zweckmäßigkeitsbegriff hat uns also den tieferliegenden Grund für die Bildung der Gifte hier nicht aufgeschlossen; er führt uns vielmehr in ein metaphysisches Gebiet, in welchem die objektive Forschung aufhört.

Matouschek (Reichenberg).

**Meyer, Arthur,** Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. (Berichte d. Botan. Gesellsch. Bd. XXIII. 1905. Heft 8.)

Alfred Fischer hat in seinen Vorlesungen über Bakterien, 1903, p. 48, einen Vorgang beschrieben, den er als Plasmoptyse der Bakterien bezeichnet und in dem er eine Degeneration, einen Ausdruck des Mißbehagens unter der Ungunst der künstlichen Kulturbedingungen, die Vorstufe für das Zugrundegehen im Kampf ums Dasein erblickt. Besonders an den Choleravibrionen hat er diese Erscheinung eingehend

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

studiert. Danach lassen diese bei ungünstigen Lebensbedingungen ihr Protoplasma am geißeltragenden Ende hervorquellen, so daß sich hier eine kugelförmige Ausstülpung bildet, die zunächst nackt ist, bald aber eine eigene Zellwand abscheidet. Wird die Geißel mitgerissen, so tritt sie in den Dienst der Plasmoptysekugel und sichert dieser eine gute Bewegungsfähigkeit. Wie die Vibrionen selbst, sind auch die Kugeln nach der Ausbildung der Membran plasmolysierbar. In kürzerer oder längerer Zeit sterben dann diese Kugeln ab, nachdem auch die unveränderten Vibrionen zu Grunde gegangen sind. Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen Fischers teilt A. Meyer seine Untersuchungen an dem Bacillus cylindricus Arthur Meyer et Blau, der sich wegen seiner Größe für das Studium der Erscheinung besser eignet, mit. Dieser Bacillus schwillt, wie der Verf. bei der Kultur im hängenden Tropfen beobachten konnte, unter bestimmten Versuchsbedingungen und zwar zunächst an der einen Seite, stark an, so daß aus dem Stäbchen eine Birnenform oder gestielte Kugel entsteht; diese geht dann in kürzester Zeit in eine vollkommene Kugel über. Der ganze Vorgang vollzieht sich äußerst rasch, in einem Falle in nur 8 Minuten von der ersten Anschwellung bis zur vollkommenen Ausbildung der Kugel. Die von Fischer beobachteten Formen deutet der Verf. in der Weise, daß von zwei aneinander hängenden Stäbchen nur das eine in die Kugelform übergegangen ist, man es also mit zwei Individuen zu tun hat und nicht, wie Fischer angibt, mit einem im Zustande des Zerfalls befindlichen. Daß sich Geißeln an den Kugeln befinden, konnte der Verf. in keinem Falle mit Sicherheit feststellen, vielmehr nimmt er an, daß die Geißeln bei der Kugelbildung abgeworfen werden. Ueber die Ursachen der merkwürdigen Umgestaltung des untersuchten Bakteriums macht der Verf. keine genaueren Angaben; jedenfalls sieht er in ihr, in Uebereinstimmung mit Fischer, eine Krankheitserscheinung, die zum Tode der Oidien führt, da eine Abimpfung aus nur noch Kugeln enthaltendem Material stets ergebnislos verlief. Boetticher (Geisenheim).

**Fischer, Alfred,** Ueber Plasmoptyse der Bakterien. (Berichte d. Botan. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906. Heft 2.)

Im Gegensatz zu dieser Mitteilung Meyers hält der Verf. seine früheren Beobachtungen vollständig aufrecht. Auch ihm sind die von Meyer dargestellten kugelförmigen Aufblähungen von Vibrionen zu Gesicht gekommen; die Erscheinung, die er als Plasmoptyse bezeichnet, tritt aber erst in einem späteren Stadium ein, als diese Umgestaltung in Kugeln. Der Verf. macht Meyer den Vorwurf, daß er unter falschen Versuchsbedingungen gearbeitet hat; er hätte nicht eine Oese voll Bakterien in einen frischen Tropfen Nährlösung bringen dürfen, sondern die Erscheinung in der ursprünglichen Lösung beobachten müssen, da eben der durch die eigenen Stoffwechselprodukte ungünstig veränderte Nährboden die Vorbedingung für den Eintritt der Plasmoptyse ist. Will man mit dem hängenden Tropfen operieren, so darf man ihm nur eine ganz minimale Spur Bakterien einimpfen, aber auch dann tritt die Erscheinung nur mangelhaft ein wegen der wesentlich anderen Lebensbedingungen, als in einer größeren Kultur. Die von Meyer beobachteten kugelförmigen Aufschwellungen der Stäbchen sind lediglich auf die Einwirkung der Säure des Nährbodens zurückzuführen. Es gelang dem Verf., die momentane Rückverwandlung der Kugeln in Stäbchen durch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einwirkung von gasförmigem Ammoniak auf den Hängetropfen mikroskopisch zu beobachten, und ebenso konnte er Stäbchen durch Einwirkung gasförmiger Säuren, wie Ameisen- und Essigsäure, momentan in den von Meyer beobachteten Schwellungszustand überführen. Diese Versuche ließen sich sogar mit denselben Bakterien beliebig oft wechselweise wiederholen. Mit Plasmoptysekugeln haben aber die Schwellungen, wie gesagt, nichts zu tun; bei diesen handelt es sich vielmehr tatsächlich um ein Aufplatzen der Membran und Hervorquellen von Protoplasma, was schon daraus hervorgeht, daß alle Uebergangsstadien und auch leere Hüllen beobachtet werden können. Durch Ammoniak können dementsprechend die echten Plasmoptysenkugeln im Gegensatz zu den kugeligen Aufblähungen auch nicht in Vibrionen zurückverwandelt werden. Die mitgeteilten Beobachtungen wurden am Vibrio proteus gemacht, doch zeigen auch eine ganze Reihe anderer Vibrionen ein ähnliches Verhalten. Boetticher (Geisenheim).

**Pantanelli, E.,** Ricerche sul turgore delle cellule di lievito (Annali di botanica. Vol. IV. 1906. Fasc. 1. p. 1—47.)

Verf. hat den Turgor einiger Hefearten (obergärige Hefe aus römischem Brot und einige untergärige Weinhefen) in seine Beziehung zu äußeren Einflüssen studiert. Zuerst während einer gewöhnlichen Gärung. Der Turgor steigt zuerst an, bleibt während einer gewissen Zeit konstant, um endlich wieder zu fallen. Diese Steigung wird verursacht, indem die Tension (Turgor minus Dehnung) ihr Maximum während des Anfanges der Gärung erreicht, dann abfällt, nach Beendigung der Gärung erst wieder etwas steigt, um endlich wieder zu fallen. Diese Aenderungen sind im wesentlichen von den Variationen des Nährwertes und des osmotischen Druckes des Kulturmediums abhängig. Bei Nahrungsmangel fällt der Turgor, wobei die Tension bis zum Tode ansteigen kann. Bringt man die Hefen ins Wasser, so fällt der Turgor ebenfalls, dann erreicht die Tension in der 3.—4. Woche ihr Maximum, um dann bis zum Tode zu fallen.

Die Turgorregulation ist in erster Linie von der Nahrung abhängig. Sie erfordert gute Lüftung, wobei auch in der Kulturflüssigkeit sich findende Stoffe teilweise fördernden (Salpeter, Glycerin), teilweise hemmenden ($MgSO_4$, Zucker) Einfluß ausüben können. Es ergab sich auch, daß die belüftete Hefe auf isomotische Reize mit gleich hoher Turgorregulation reagiert, während bei der in gewöhnlicher Weise gärenden Hefe die verschiedenen Stoffe ungleiche Reaktionen erwecken. In einem $H_2$- und $Az_2$-Strom wird die Turgorregulation eingeschränkt, im $CO_2$-Strom stellt die Entwickelung sich ganz ein und die Hefe wird stark agglutiniert. Auch auf die Turgorregulation übt das Alter der Kultur Einfluß aus, indem sie mit dem Alter in Amplitude abnimmt. Ref. möchte es nicht unterlassen, hier eine Berichtigung zu einer Bemerkung einer vorigen Arbeit Pantanellis über denselben Gegenstand (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. p. 419) einzuschalten. Ref. bemerkte daselbst, die Abnahme des Turgors sei nicht auf den Einfluß des Alters zurückzuführen, sondern auf eine Aenderung der osmotischen Leistung des Substrates und auf Vergiftungserscheinung. Nun hat aber Pantanelli in dieser Arbeit hervorgehoben, er verstehe unter „Einfluß des Alters“ alle jene Einflüsse, welche während des Alterns der Kulturen auftreten, durch welche Anmerkung der hier erwähnte Einwand überflüssig wird. Swellengrebel (Amsterdam).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Dawson,** Der Mechanismus der Enzym- und Fermentwirkung. (Journ. of the Inst. of Brewing. 1905. p. 288. Uebers. in Zeitschr. f. Spir.-Ind. 1906. p. 94.)

Verf. gibt einen kurzen historischen Ueberblick über die Entwickelung der Lehre von den Enzym- und Fermentwirkungen von der ältesten Zeit an und geht dann auf den heutigen Stand der Frage ausführlich ein. Die Ansicht, es handele sich bei der enzymatischen Wirkung um eine einfache Kontaktwirkung, läßt sich nach neueren Forschungen nicht länger aufrecht erhalten, da die beobachteten Reaktionsgeschwindigkeiten von den zu erwartenden zu erheblich abweichen. „Die gesammelten Zahlen zeigen, daß das Enzym eine tätige Rolle bei der Reaktion spielt, indem es ein Zwischenprodukt mit dem Ausgangskörper bildet; die Verbindung zersetzt sich dann, um die Reaktionsprodukte zu liefern, und setzt das Enzym wieder in Freiheit, das sich aufs neue mit der Ausgangssubstanz verbindet." Es verläuft also die Wirkung des Enzyms in zwei Reaktionen, deren jede dem Gesetz der Massenwirkung folgt. Der Charakter der Gesamtumwandlung wird bestimmt durch die Geschwindigkeit dieser beiden Vorgänge.

Verf. geht dann auf 4 Sonderfälle näher ein, die hier nur kurz angedeutet werden können. Die für die meisten experimentellen Studien zutreffende Annahme ist die, daß die Menge des Enzyms im Verhältnis zur Ausgangssubstanz sehr klein ist, aber dazu eine sehr große Verwandtschaft hat. Dann wird die Reaktionsgeschwindigkeit, solange die Bedingungen die gleichen sind, konstant bleiben. Eine Aenderung dieser Bedingungen tritt durch die Reaktionsprodukte ein, und damit eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit, wie auch Versuche von Brown mit Rohrzucker gezeigt haben, sowie Untersuchungen anderer Autoren mit verschiedenen anderen enzymatischen Prozessen. Es scheint zwischen der Konzentration der Reaktionsprodukte und der Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit eine gewisse Proportionalität zu bestehen.

Die vom Verf. an zweiter und dritter Stelle genannten Möglichkeiten, daß nämlich entweder die Menge des Enzyms im Verhältnis zur Ausgangssubstanz groß ist, bei geringerer chemischer Verwandtschaft, oder aber das Enzym mit den Reaktionsprodukten eine Verbindung eingeht, „tragen wahrscheinlich ganz allgemein beide zur allmählichen Verringerung der Menge in aufeinanderfolgenden gleichen Zeiträumen umgewandelter Substanz bei; die Bestimmung des Einflusses jedes Faktors für sich ist eine überaus schwierige Sache".

Beziehungen zwischen chemischer Struktur und Vergärbarkeit haben Arbeiten von Fischer u. A. klargelegt. In Uebereinstimmung damit hat Armstrong gezeigt, „daß die stereochemischen Unterschiede der molekularen Konfiguration genügen, um zu entscheiden, ob ein Produkt der enzymatischen Wirkung einen verzögernden Einfluß auf das Enzym haben oder nicht auf dasselbe einwirken wird".

In letzter Linie kämen noch Reversionsvorgänge als verzögernder Faktor in Betracht, wie sie z. B. für Aethylbutyrat durch Lipase (Kastle und Loevenhart) und für Amygdalin durch Hefemaltase (Emmerling) sowie in anderen Fällen tatsächlich beobachtet sind.

Ob es berechtigt ist, organische und unorganische Fermente in Parallele zu stellen, ist nach Verf. zweifelhaft. Vielmehr erscheint ihm die Theorie einleuchtend, daß die bei der enzymatischen Hydrolyse wirk-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lich aktiven Elemente Wasserstoffinen sind, da geringe Säuremengen die Wirkung vieler Enzyme erhöhen. „Gemäß dieser Anschauung bestünde die Rolle des Enzyms in der Bildung einer Verbindung, die leichter durch die Wasserstoffionen angegriffen würde als der ursprüngliche Hydrolyt."

Es folgt eine kurze Erläuterung der Frage, ob die Wirkung der Enzyme speziell der Hefezelle in oder außerhalb der Zelle statthabe, und der Pasteurschen Theorie an der Hand der neueren Arbeiten. Eine kurze Zusammenfassung bildet den Schluß.

Vageler (Königsberg).

**Lafar,** Handbuch der technischen Mykologie. 2. vermehrte Auflage. 5. und 6. Fortsetzung. Jena (G. Fischer) 1905.

Nach den vorausgegangenen Berichten über die bis jetzt erschienenen Lieferungen von Band I, II und III kommt nun von Band IV die 1. Lieferung, die 7. des Gesamtwerkes, zum Referat.

Der 1. Abschnitt bringt die allgemeine Morphologie, Entwickelungsgeschichte und Anatomie der Saccharomyceten und Schizosaccharomyceten, wovon A. Klöcker-Kopenhagen das 1. Kapitel über allgemeine Morphologie und Entwickelungsgeschichte übernommen hat. Zunächst werden Sproßpilze, Hefen, Saccharo- und Schizosaccharomyceten beschrieben. In zeitlicher Reihenfolge werden die Forschungen von Cagniard-Latour, Schwann und Kützing angeführt und dann auf die neuere, durch Chr. Hansen 1881—83 begründete. Epoche hingewiesen, welche durch das zuverlässige Reinzuchtverfahren für die Biologie und systematische Beschreibung neue Wege schuf. Fußend auf den genannten Forschungen, faßt Klöcker die Begriffe, wie sie im Lafarschen Werke zur Verwendung kommen, dahin zusammen, daß die Ausdrücke Sproßpilze und Hefen keine systematischen Bezeichnungen sind. Als Sproßpilze sind nach heutiger Anschauung alle einzelligen Pilze anzusehen, welche Sprosse treiben können; einige dieser vermögen in zuckerhaltigen Flüssigkeiten Alkohol zu bilden und werden Hefen genannt. Es gibt aber auch einzellige Hefenpilze, welche keine Sprossen treiben und als Schizosaccharomyceten bezeichnet werden; infolgedessen werden mit Hefen einzellige Eumyceten bezeichnet, welche Alkoholbildung hervorrufen können.

Unter den Hefen finden sich aber auch solche, welche in ihrem Inneren Endosporen entwickeln; zu denjenigen, welche diese Fähigkeit nicht besitzen, rechnet man die Torula-Arten. Die sporenbildenden Arten gehören alle in die Familie der Saccharo- und Schizosaccharomyceten; zu den ersteren aber werden wieder die wenigen endosporenbildenden Formen gezählt, welche keine Alkoholgärung hervorrufen. Sonach sind unter Saccharomyces einzellige Pilze zu verstehen, welche sich durch Sprossung vermehren und Endosporen bilden. Im 9. Kapitel des IV. Bandes wird übrigens nochmals auf die neuesten Forschungen, wie solche Chr. Hansen in seinen „Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten" niedergelegt hat, zurückzukommen sein.

Die §§ 2 und 3 bringen an der Hand zahlreicher Figuren die Ergebnisse über die Vegetation in Flüssigkeiten und auf der Oberfläche von Flüssigkeiten, und in § 4 sei besonders auf Tafel 1 mit den Abbildungen der Kolonieen einiger Hefenarten „auf festen Nährböden" aufmerksam gemacht.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ascus- und Ascosporenbildung in § 5 und die Keimung der Ascosporen in § 6 ist gleichfalls durch zahlreiche und instruktive Figuren, sowie eine Temperaturtabelle für die Sporenbildung einiger Saccharomyceten in Gipsblockkulturen veranschaulicht.

Das 2. Kapitel „Anatomie der Hefezelle“ hat Prof. Dr. H. Will-München bearbeitet. Beginnend mit der Entwickelung der Zellhaut, wird hervorgehoben, daß die Verdickung derselben als Schutzvorrichtung gegen ungünstige Einflüsse anzusehen und daß eine Schichtung bei sehr starker Verdickung der Haut der Dauerzellen wahrzunehmen ist, welche Erscheinung durch Behandeln der Zellen mit konzentrierter Salzsäure noch sichtbarer gemacht werden kann. Den Paragraphen über das gelatinöse Netzwerk, chemische Zusammensetzung der Zellhaut und mikrochemische Reaktionen derselben folgen allgemeine Angaben über die Methoden des Zellkernnachweises der Hefen und ältere Angaben über den Zellkern. Der § 11 bringt die neueren Arbeiten über den Hefenzellkern, welchem sich das Wissenswerte über Gestalt, Größe, Lage und Bau des Zellkerns anschließt. Sehr interessant und in eingehendster Weise geschildert sind die Teilung des Zellkernes bei der Sprossung und Sporenbildung, Verschmelzung des Zellkernes und Sexualität. Dieser und die folgenden Paragraphen über Vakuolen und Granula sind gleichfalls mit zahlreichen und sehr demonstrativen Figuren versehen, deren größte Anzahl wir Will selbst zu verdanken haben.

Aus dem letzten Paragraphen des Kapitels, über Konsistenz der Granula, natürlich gefärbte Granula, Differenzierung durch Färbung und Bedeutung für die Zelle, ist bezüglich der Angaben über die Eigenbewegung der Granula, also Ortsveränderung, eine besonders strenge Kritik erforderlich, da die in den Vakuolen eingeschlossenen Körperchen nicht selten eine tanzende oder wimmelnde Bewegung ausführen. So beruhe die Angabe von Eisenschitz, daß die Granula zuweilen aus den Vakuolen auswachsen, sich weiter bewegen und sogar aus dem Plasma heraustreten können, um sich an der äußeren Zellwand anzulegen, nach Wills Anschauung auf Beobachtungsfehlern. Die Interessenten seien ganz besonders auf diese Abhandlung hingewiesen.

Der 2. Abschnitt „Spezielle Physiologie der Ernährung und der Vermehrung und Methodik der Reinzüchtung der Hefen“ hat den Herausgeber des Handbuches, Prof. Dr. Lafar-Wien, zum Verfasser. Er bespricht im 3. Kapitel die mineralischen Nährstoffe und in § 18 sind Angaben über Aschengehalt und Aschenanalysen niedergelegt, welchen dann die Mitteilungen über Ka, Mg, Fe, P und S als Nährstoffe und die Bedeutsamkeit des Kalkes folgen. Zwei Tabellen über prozentische Zusammensetzung von Hefenaschen (p. 84 u. 88) dienen zur Ergänzung. Im 4. Kapitel werden die organischen Nährstoffe eingehend besprochen und nähere Angaben über Wassergehalt, Trockenrückstand, spezifisches Gewicht und Elementaranalysen der Hefen gemacht, denen sich die Paragraphen über Kohlenstoffquellen, anorganische und organische Stickstoffquellen anschließen.

Von hervorragender Wichtigkeit ist naturgemäß das folgende (5.) Kapitel über Hefenzüchtung und Hefenvermehrung, welches in § 24 die Einzellkultur nach Hansen bringt. Besonders sind hier die Böttchersche Kammer, die verschiedenen Zuchtkolben nach Chamberland und Pasteur, verbessert durch Hansen, sowie die Lindnersche Tröpfchenkultur zu studieren.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Den Schluß bilden die Bedingungen der Zellvermehrung und Atmung; wir finden hier eine Fülle hochwichtiger Einzelheiten, die im Kreise der Interessenten sehr willkommen sein werden. So beispielsweise die Nützlichkeit des Lüftens des Nährbodens für die Entwickelung der darin zu züchtenden Hefe, welches Verfahren im V. Band für die Ausführung im Großbetriebe in besonders eingehender Weise geschildert werden soll.

Ueber das letzte Kapitel kann erst nach dem Erscheinen der den Schluß bringenden nächsten Lieferung berichtet werden.

Vom V. Bande liegen nunmehr zwei Lieferungen (8. und 10. des Gesamtwerkes) vor; in vier Abschnitten werden von verschiedenen Autoritäten die wichtigen Gebiete der Mykologie der Tabakfabrikation und Gerberei, der Haltbarmachung des Obstes, der Mykologie des Brauwesens, sowie der Spiritusbrennerei und der Preßhefenfabrikation besprochen.

Im 1. Kapitel behandelt Prof. Dr. J. Behrens die Tabakfabrikation, und erfahren wir, daß bei dem dem Trocknen des Tabaks vorausgehenden sogenannten Schwitzenlassen nach eigenen Untersuchungen des Verf. die Temperaturerhöhung im Anfange nicht auf einem durch Mikroorganismen hervorgerufenen Gärungsvorgange, sondern auf Atmung der Blätter beruht; hierbei verschwindet das Stärkemehl aus den Blättern, indem es zum Teil veratmet wird und anderenteils Zucker bildet. Auch bei der Dachreife spielen Mikroorganismen keine Rolle, während Müller-Thurgau das als Dachbrand bezeichnete Verderben der Blätter auf Pilze zurückführt, die er regelmäßig auf dachbrandigen Blättern fand und als der Gattung Pleospora nahestehend bezeichnet. Eine zweite von Sturgis untersuchte Krankheit ist die Stammfäule, welche durch die schädigende Einwirkung von Botrytis longibrachiata hervorgerufen wird. Im weiteren werden noch mehrere Schädlinge angeführt, bei welchen auch verschiedene Schimmelpilze genannt werden. Bezüglich der Fermentation des Tabaks ist über den eigentlichen Zweck dieses Verfahrens bis heute noch nichts Exaktes und Greifbares ermittelt, doch ist sicher, daß eine Veredelung an Aussehen und Aroma statthat und auch ein günstiger Einfluß auf Aufbewahrung und Transport ausgeübt wird. Daß Mikroorganismenkeime auf Tabak nicht fehlen, ist selbstverständlich und nach Behrens sei erwähnt, daß auf 100 qcm Oberfläche sich zwischen 22800 und 112500 Keime fanden, darunter 6700—12500 Schimmelsporen. Auffallen muß es, daß erst 1901 Suchsland sich mit den von der Theorie geforderten Organismen der Tabakfermentation näher beschäftigte und die Idee der Edelfermentation entwickelte. Er isolierte Keime aus den vorzüglichsten Tabaken der Havanna u. a. und setzte sie vor der Fermentation Tabaken der Pfalz, Uckermark u. s. w. zu, doch scheinen diese Anwendungen von Reinzuchten in der Tabakindustrie keine nachhaltige Lebenskraft erreicht zu haben. Sicher ist aber, daß Bakterien verschiedener Art die Ursache der Fermentation sein können und den Gang derselben maßgebend beeinflussen. Im Gegensatz zu diesen Anschauungen sprach Loew 1899 die Ansicht aus, daß nicht Organismen, sondern oxydierende Enzyme der Tabakblätter selbst die Ursache der Fermentation seien und unterschied dabei bereits in Oxydase, Peroxydase und Katalase. Gegen diese Anschauungen



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

traten dann Vernhout und Raciborski auf und auch Behrens kam mit deutschen Tabaken zu Ergebnissen, welche von denen Loews einigermaßen abweichen.

Bei der weiteren Behandlung des Tabaks kommen bekanntermaßen das Mischen verschiedener Sorten, das Rösten, das Auslaugen und das Altern in Betracht und der Zusatz von Saucen, für welche die wechselndsten Vorschriften bestehen. Eine weitere Behandlung des Tabaks, das Petunieren, wird hauptsächlich durch Bildung von Ammoniumkarbonat bedingt; man wählt hierzu minderwertige Blätter aus, die jedoch von tadellosem Aroma sein müssen, und legt sie etwa 8 Tage, bis sie verfaulen, in Wasser und besprengt dann mit diesem Wasser die andererseits erhaltenen trockenen Blätter. Eine wesentliche Geschmacks- und Aromabesserung soll hierdurch erzielt werden. Zum Schlusse wird noch die günstige Einwirkung von Pasteurisieren des Tabaks und die Fabrikation des Râpé besprochen.

Reg.-Rat W. Eitner-Wien leitet die Mykologie der Gerberei mit den Worten ein, „daß die Gerberei eine Industrie ist, in welcher mit der Tätigkeit verschiedener Arten von Mikroorganismen gerechnet werden muß, wobei ein Teil derselben bekämpft, ein anderer aber zur Mithilfe herangezogen wird". Da die tierische Haut, von dem Augenblicke an, in welchem sie ihrem Träger abgezogen wurde, der Einwirkung von Bakterien unterliegt, so muß sie, wenn sie nicht baldigst verarbeitet wird, gegen obige Einwirkung geschützt, also konserviert werden. Die älteste Art ist das Auftrocknen, die neuere das Salzen. Bei der ersteren kann leicht durch thermogene Bakterien Selbsterhitzung eintreten, die schädigend einwirkt, indem sie das Hautgewebe in eine käsige Masse verwandelt und nach dem Erweichen der Haut eine Spaltung herbeiführt. Ein gleiches kann bei ungenügendem Salzen eintreten. Neuerdings werden die aus verseuchten Gegenden eingeführten Häute sterilisiert; daß Infektionen durch Milzbrand vorkommen, ist bekannt und wendet man hiergegen jetzt vielfach fraktionierte Behandlung mit Formaldehyddämpfen an.

Die getrockneten Häute müssen vor ihrer Verarbeitung in der Gerberei wieder aufgeweicht werden und hierbei setzt man sie aufs neue der Einwirkung von Bakterien und deren Ausscheidungen aus. Bei den Zersetzungsvorgängen in der Weiche und beim Schwitzen sind es meist Proteus vulgaris und mirabilis, welche den Hauptanteil an der Zersetzung der Schleimschicht der Oberhaut nehmen und im Kalkäscher sind nach Andreasch als mitwirkend Bacterium arborescens, Bac. subtilis und Sarcina alba und aurantiaca nachgewiesen worden.

Auch die in den §§ 6 und 7 besprochenen Mistbeizen, Kleienbeize und die kombinierten Beizen beruhen im wesentlichen auf bakterieller Einwirkung. Bei den Gärungsvorgängen in den Gerbbrühen sei hauptsächlich auf die bedeutsame Arbeit von Fr. Andreasch verwiesen.

Die eigentlichen Gärungserreger in den Lohbrühen führen zunächst die Alkoholgärung herbei, welche dann durch die nachgewiesenen Bact. aceti Hansen, Bact. Pasteurian. und Mycoderma in die Essiggärung und schließlich durch vier von

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Andreasch erforschte Gruppen von Milchsäurebakterien und Hefen in die Milchsäuregärung übergeht; Buttersäuregärung aber kommt nur bei jahrelang in Gebrauch gestandenen Gerbbrühen vor.

Die vielseitige Bakterienflora der Gerbbrühen stammt teils von den Häuten selbst, ferner finden sich Luft- und Betriebswasserkeime und auch solche von den Gerbmaterialien.

Auch die Zersetzungserscheinungen an gegerbtem Leder und die sogenannten Stockflecken sind auf Einwirkung von Aspergillus, Penicillium und Mucor zurückzuführen.

Hervorzuheben ist schließlich, daß die von den Behörden vorgeschriebene Reinigung der Gerbereiabwässer große Schwierigkeiten bereitet, da solche von sehr wechselnder Zusammensetzung und daher ganz verschiedenartige Behandlung erfahren müssen (p. 34—35).

Die Mykologie der Haltbarmachung des Obstes hat Prof. Dr. Müller-Thurgau zum Verfasser und werden im 3. Kapitel die Fäulniserscheinungen an Obstfrüchten und im § 13 zunächst das Wesen der Obstfäulnis besprochen. Wir ersehen hieraus, daß die frühere Annahme, die Obstfäule als chemischen Vorgang aufzufassen, durch Davaines Forschungen (1866) hinfällig wurde, da er wohl als erster den Nachweis lieferte, daß das Fruchtfleisch, soweit die Fäulnis sich erstreckt, von zahlreichen und mannigfaltig sich verzweigenden Pilzfäden durchzogen ist und hierdurch, sowie durch Infektionsverversuche dargetan ist, daß die Fäulnis als eine Folge dieses Pilzangriffes betrachtet werden muß; auch Brefeld erbrachte später diesen Beweis. Letzterer aber unterscheidet neben dieser Fäulnis durch Pilze noch eine spontane Fäulnis ohne solche und erwähnt das sogenannte Teigwerden bei gewissen Birnsorten und besonders bei Mispeln. Die beiden genannten Autoren führen als sehr häufig bei der Fäulnis vorkommend Penicill. glaucum, Mucor mucedo an und besonders bei Birnen betätige sich Rhizopus nigric. und Botrytis cinerea; andere Forscher erweitern noch die Angaben (p. 39). Dem von den Fäulnispilzen handelnden § 14 sind mehrere Figuren dankenswert angefügt.

Für den Fachmann sehr lesenswerte Einzelheiten von großer praktischer Bedeutung bringen die Abhandlungen über das Eindringen der Pilze und die natürlichen Schutzmittel der Früchte und die Veränderung derselben durch die Fäulnispilze.

Im 4. Kapitel wird der Schutz des Obstes gegen Fäulnis überhaupt und in § 17 der Schutz frischen Obstes bei der Ernte und dem Versand besprochen. Aus dieser gleichfalls für den Praktiker besonders wichtigen Abhandlung sei hervorgehoben, daß man in Amerika zuerst eigene Obsthäuser zur längeren Lagerung von Obst baute, die bei richtiger Konstruktion den Anforderungen besser entsprachen als gewöhnliche Hauskeller, und in denen man die Temperatur auf $+2-5^{0}$ zu halten sucht, um das Nachreifen zu verlangsamen und hierdurch die Früchte länger widerstandsfähig zu erhalten. Um aber die Pilzentwickelung geradezu zu unterdrücken, bewahrt man dort das Obst neuerdings in großen Kühlhäusern bei $-0{,}2-0^{0}$ auf. Da hierbei kein Nachreifen stattfindet, müssen die Früchte nahezu ausgereift eingelagert werden. Schon $+2^{0}$ reicht nicht mehr zur Abhaltung der gewöhnlichen Fäulniserreger aus, wenn nicht gleichzeitig Feuchtigkeit ver-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mieden wird, und nach Eustace genügen schon 7° C, um in einem gut ventilierten Raume die Cephalothecienfäule der Aepfel zum Stillstand zu bringen.

Die Haltbarmachung von Obst- und Obstsäften ist in bakteriologischer Hinsicht von erhöhtem Interesse. Da eine längere Aufbewahrung lebender Früchte nur bei wenigen Obstarten tunlich ist, ohne daß Geschmack und Nährwert leiden, so stellt man auf verschiedene Weise Dauerprodukte her, welche diese Mißstände umgehen. Es sind zur Erlangung dieses Zieles im wesentlichen drei Grundsätze maßgebend. Entweder werden die ganzen oder geteilten Früchte oder auch deren Saft sterilisiert oder durch Wasserentzug oder Zuckerzusatz eine solche Konzentration herbeigeführt, daß Pilze nicht mehr zu wachsen vermögen, oder endlich das Verderben durch zugesetzte Pilzgifte verhindert.

Das bekannte Appertsche Verfahren war seiner Zeit bahnbrechend, und so gut es sich bald für Früchte im allgemeinen bewährte, so fand man doch auch bald, daß es für Milch, Fleisch und Gemüse nicht ausreichte, da die bei diesen letzteren häufig vorkommenden sporenbildenden Bakterien durch die angewendeten Hitzegrade nicht vernichtet wurden. Es fehlen zwar heutigen Tages noch genauere Untersuchungen über die Bakterienflora des Obstes, aber es ist bekannt, daß die meisten der hier in Betracht kommenden Bakterien in sauren Flüssigkeiten vernichtet werden und unter den wenigen in Obstsäften gedeihenden, z. B. einigen Essig- und Milchsäurebakterien, befinden sich keine, welche höhere Wärmegrade ertrügen oder widerstandsfähige Sporen bilden. Ungenügend erhitzte Obstkonserven aber werden nicht durch Bakterien, sondern durch Schimmelpilze und Hefen verdorben.

Müller-Thurgau fand, daß die vegetativen Zellen der in den Obstsäften wachsenden Arten von Mucor, Penicillium, Botrytis, Dematium, Saccharomyces, Torula u. s. w. im feuchten Zustande und besonders in saurer Flüssigkeit, keine hohen Wärmegrade ertragen und im Traubensaft bei 55° in 10 Minuten absterben; nur eine von Meissner studierte Schleimhefe verträgt eine ebenso lange Einwirkung von 61°. Größere Resistenz wies Hansen für Dauerzellen und Sporen von Hefen nach. Weitere derartige Einzelheiten und praktische Erfahrungen sind hier und in den folgenden Paragraphen über Haltbarmachung von Obst und Obstsäften durch Erhöhen der Saftkonzentration und Haltbarmachung dieser durch Pilzgifte niedergelegt.

Die Mykologie des Brauwesens bildet den III. Abschnitt und das 5. Kapitel „Die Züchtung von Brauereihefen im großen“ ist von Prof. Dr. J. Brand, Albert Klöcker, Dr. H. Wichmann und Prof. Dr. Will gemeinsam bearbeitet.

Die Darlegung der Prinzipien der Hefereinzucht in der Brauerei wird in § 21 besprochen und in dem Referat über den I. und II. Abschnitt von Band IV (5. Fortsetzung) sind bereits Mitteilungen hierüber vorausgeschickt.

Nach kurzer Erwähnung der Tätigkeit Pasteurs auf diesem Gebiete, welcher bereits 1876 ein Verfahren zur „Reinigung“ der Brauereihefe, im Gegensatze zu der heutigen „Reinzüchtung“, angegeben hatte, werden auch Naegelis Theorieen der Gärungstechnik

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

aus dem Jahre 1879 erwähnt. Bis zu dieser Zeit haben häufig die Brauer große Summen durch Mißerfolge während der Gärung verloren, bis dann 1884 Thausing aussprechen konnte, daß die Untersuchungen Hansens über Züchtung reiner Hefe zu großen Hoffnungen berechtigen, deren Erfüllung von weittragendster Bedeutung sein würde.

Hansens Verdienst ist es, folgende Sätze für die Untergärung ermittelt zu haben: „1) daß es bestimmte wilde Hefenarten sind, welche einige der gefährlichsten Krankheiten in den Brauereien hervorrufen; 2) daß das, was man bisher Saccharomyces cerevisiae genannt hatte, ein Sammelbegriff für verschiedene Arten und Rassen war, welche Biere von verschiedener Beschaffenheit ergaben, und 3) daß deshalb nur eine aus einer einzelnen ausgewählten Art oder Rasse bestehende Stellhefe anzuwenden ist.“ Seine ersten derartigen Mitteilungen im Jahre 1882 wurden fast nicht beachtet, und erst allmählich brach sein Grundsatz: „Das Mittel, eine passende Art oder Rasse zu erhalten, ist die Reinzucht mit dem Ausgangspunkte von einer einzelnen Zelle“ sich Bahn. Auch über die Einzell-Kultur ist bereits in der 5. Fortsetzung dieser Referate berichtet.

§ 22 beschäftigt sich mit der Uebersicht über die Anwendung des Reinzuchtsystems in der Ober- und Untergärung der Brauereien in den verschiedenen Ländern. Dann schließen sich die Abhandlungen über den Hefereinzuchtapparat von Hansen und Kühle und andere Systeme von Reinzuchtapparaten an, welche durch die beigegebenen Figuren dieser Apparate wesentlich unterstützt werden. Ausführliche Erläuterung über den Betrieb eines Reinzuchtapparates, Angaben über die verschiedenen Arten der Aufbewahrung der Hefe für technische Zwecke, ferner über Lebensdauer von Hefe in feuchtem und in trockenem Zustande und die hierbei mitwirkenden Faktoren, bieten dem Fachmanne ein ungemein reiches Material zur Erweiterung der Kenntnisse.

Auf den Seiten 115—122 werden neuere Konservierungsverfahren besprochen und zunächst die schon frühzeitig für den überseeischen Transport verwendeten Zusätze von Holz- und Knochenkohle, frischen Hopfen, Hopfenstroh und aus Getreide, besonders Gerste, hergestelltes Kohlenpulver erwähnt, so ferner, daß schon Pasteur Gips zu Beobachtungen über die Lebensdauer der Hefe und zur Herstellung von „Reinkulturen“ benutzte. C. Lintner ermittelte zuerst, daß gepreßte Hefe sich mit dem 4—5fachen Gips gemengt 4 Monate lang gut hält. Eingehend wird auf p. 116 in einer für den Praktiker sehr verwendbaren Weise das von O. Reinke erdachte Konservierungsverfahren für überseeischen Transport besprochen. Da man in Indien während der heißen Zeit nicht brauen kann, so mischt man nach Heron die Hefe mit Gips und Wasser, preßt das Gemisch in Flaschen, in denen es erhärtet. Die verschlossenen Flaschen bewahrt man bis zur kühlen Jahreszeit auf; Evans stellte fest, daß in Gips aufbewahrte Hefe rascher als in Reismehl eingeschlossene absterbe. Der Vollständigkeit halber sei noch die „magische Hefe“ erwähnt, welche nach Reinke in Amerika ein bedeutender Handelsartikel gewesen sein soll (p. 117). P. Lindner hat Vermischung von Hefe mit Torfmoos versucht und Zusätze von Malzschrot als vorzüglich befunden und dabei ermittelt, daß so ihr eigentümlicher, frischer Geruch erhalten bleibe.

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Sehr umfassende, sich über einen Zeitraum von 17 Jahren ausdehnende Konservierungsversuche teilt H. Will mit.

Daß die Konservierung von Hefe durch Beimischung der angegebenen Stoffe neben unzweifelhaften Vorteilen auch Nachteile hat, ist schon durch die Schwierigkeit möglichster Reinerhaltung der Hefe bedingt, da die notwendigen Manipulationen bei aller Vorsicht eine Infektion mit Bakterien und wilden Hefen kaum ausschließen lassen (p. 119).

In theoretisch ganz unrichtiger Weise wurde auch Glycerin als Konservierungsmittel vorgeschlagen; die Gärkraft einer hiermit präparierten Hefe ging in 10 Tagen von 47,8 Proz. auf 3,14 Proz. zurück.

Auch Konservierung durch direktes Trocknen der Hefe wurde versucht und sowohl durch Apparate als auch auf primitive Art ausgeführt. Die nach Heinzerling im Vakuum bei 31—44° C in Pulverform hergestellte Hefe besitzt nur geringe Gärkraft und scheint hierbei die langsame Entfernung des Wassers schädigend gewirkt zu haben. Wills diesbezügliche Versuche, bei welchen er für rasches Verdunsten des Wassers sorgte, ergaben bessere Resultate.

Gänzlich fehlerhaft sind die Vorrichtungen, bei welchen Hefe auf mehreren übereinanderliegenden Horden getrocknet wird, da der von den unteren Lagen aufsteigende Wasserdampf die oberen immer wieder neu anfeuchtet. Neuerdings soll nach Reinke ein von Papperitz konstruierter Apparat täglich 15 kg trockne und einwandfreie Hefe liefern, und zum Schlusse wird noch ein H. Hahn patentiertes Verfahren erwähnt, bei welchem gewaschene und gepreßte Hefe durch filtrierte Preßluft, deren Temperatur von ca. 10—15° auf 30—40° C gesteigert werden kann, kontinuierlich getrocknet wird.

Der Wichtigkeit des Gegenstandes entsprechend, wird die Verwertung der Brauereihefe und Abfallstoffe zur Darstellung von Nährpräparaten eingehend in § 29 erörtert; stehen doch nach Delbrück allein in Deutschland 60 Mill. kg guter Hefe, welche in Brauereien nicht weiter verwendet werden kann, zur Verfügung, während nach Ferron in den bierbrauenden Ländern 132 Mill. kg verwertet und 172 Mill. kg nicht verwertet werden. Früher nur als Viehfutter und eventuell Düngemittel auszunutzen versucht, bemächtigte sich gesteigerte Intelligenz und spekulativer Sinn dieses Materials, um den hohen Eiweißgehalt und andere wertvolle Bestandteile auszubeuten und hieraus Nährpräparate, Genußmittel und besonders Extrakte darzustellen, welche bis zu einem gewissen Grade als Ersatz des teuren Fleischextraktes dienen können. Auch für Züchtung der Hefe in der Brauerei wird nach W. Kues alte Hefe durch Zusatz eines saueren Phosphates und Trocknen wieder geeignet gemacht. Auf den Seiten 123—128 sind zahlreiche Angaben niedergelegt, die in den betreffenden Kreisen gewiß großes Interesse hervorrufen, und als Schluß dient eine tabellarische Uebersicht der Analysen von zehn im Handel vorkommenden Hefeextrakten.

Bezüglich der Verwertung zu therapeutischen Zwecken findet sich die Angabe, daß schon von alters her Hefe als anregendes und antiseptisches Mittel benutzt wurde, und nach Cossmann soll Hippokrates und Dioscorides geröstete Hefe empfohlen haben. In neuerer Zeit wurde sie zuerst von französischen Forschern empfohlen, und deutscherseits teilte 1852 J. R. Mosse bei Anwendung von Bierhefe

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rasche Heilung schwieriger Fälle von Furunkulose mit. Auch bei Milzbrand, Pocken, Masern, Akne und Rotlauf sind günstige Erfolge angeführt (p. 128). Ueber die Frage, welche Hefebestandteile die Heilwirkung hervorrufen, ist noch kein Abschluß erzielt. Einzelne betrachten die in der Hefe vorhandenen Enzyme als Träger der bakteriziden Eigenschaften, andere sehen das in der Hefe vorhandene Nuclein und die Nucleinsäure als heilkräftig an, und wieder eine Anzahl von Forschern legt großen Wert auf das isolierte Hefenfett, Cerolin.

Während nun in den letzten Jahren fast allgemein frische Hefe zur therapeutischen Verwendung gelangte, mußte man auch daran denken, daß solche wegen ihrer leichten Zersetzbarkeit nicht lange gleichmäßig und auch nicht überall erhältlich ist; heutigen Tages werden daher haltbare Dauerpräparate durch Entziehung des größten Teiles von Wasser hergestellt und verwendet und sei unter anderem auf die von R. Albert, E. Buchner und R. Rapp hergestellte Acetondauerhefe aufmerksam gemacht. Ueber die bakterizide Wirkung dieser Präparate liegen verschiedene Arbeiten vor (p. 130).

Den Schluß des 5. Kapitels bilden Angaben über die Verwendung der Brauereiabfallhefe zu Fütterungszwecken und als Düngemittel, und zwei Seiten Literaturangaben beweisen die Fülle des auf diesen Gegenstand verwendeten Fleißes.

Im 6. Kapitel berichten A. Klöcker-Kopenhagen und Dr. Barth-München über Haupt- und Nachgärung des Bieres.

In § 32 wird zunächst die Reinhefe im Brauereibetriebe besprochen und deren Verwendung bei der Untergärung im Gegensatz zur Obergärung in allen Einzelheiten auseinandergesetzt und hervorgehoben, daß von den technischen Fortschritten, welche die Einführung des Hefereinzuchtsystems in Brauereien zur Folge hatte, einer der wichtigsten die Verwendung geschlossener Apparate zur Lüftung und Kühlung der Würze sei und so im Gegensatze zur früheren Zeit, wo ja meist in den Sommermonaten gar nicht gebraut wurde, eine Verunreinigung mit den verschiedenartigsten und stets wechselnden Luftkeimen ausgeschlossen wird. Auch hierbei haben Pasteur und Hansen dankenswerte Aufklärungen gegeben (p. 136).

Die nächsten Paragraphen über Mischsaaten in der Brauerei, Reinigung und Reinhaltung der Betriebshefe, Bruch und Klärung im Bottich und im Lagerfaß, Vergärungsgrad des Bieres in seiner Abhängigkeit von mykologischen Faktoren sind so reich an Inhalt, daß sie dem Einzelstudium überlassen werden müssen (p. 138—150).

Den Schluß des Kapitels bildet die Biologie der Lagergärung und werden hier die Unterschiede zwischen grün und lauter nochmals erwähnt. Nach Untersuchungen von Will enthält Bier beim lauteren Fassen etwa 880000 Zellen im Kubikcentimeter, während es beim grünen Fassen 6800000—19600000 Zellen aufweist. Die bei der Nachgärung des Bieres sich bildende $CO_2$ wir durch den eingetriebenen Spund dem Biere erhalten, so daß es unter $CO_2$-Druck steht; seit einiger Zeit aber benutzt man auch einfache Quecksilbermanometer, welche bei einem gewissen Ueberdrucke im Fasse die überflüssige $CO_2$ entweichen lassen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das nächste Referat wird über das 7.—9. Kapitel des III. Abschnittes und 10.—12. Kapitel des IV. Abschnittes berichten.

Rullmann (München).

**Pfister,** Die Gewinnung von Preßhefe alter Methode ohne Verwendung von Schlempe oder Schwefelsäure. (Brennerei-Zeitung. Jahrg. XIII. 1906. No. 671.)

Zur Maischung kamen Roggenmalz, Gerstendarrmalz und Buchweizenschrot. Die Ansatzbereitung erfolgte in bekannter Weise mit gleichen Teilen Roggen- und Darrmalzschrot, 36 Stunden Säuerung und 12 Stunden Gärdauer. Eine wesentliche Veränderung ergab sich in der Bereitung der Hauptmaische, nämlich die Anwendung einer gleich großen Menge milchsaurer und süßer Maische. Beide Maischen wurden im Verhältnis 1 : 4 bereitet. Die Sauermaische wurde nach erfolgter 2-stündiger Verzuckerung 14 Stunden der Milchsäuregärung überlassen. Sobald sie bei der nachfolgenden Kühlung 27° R erreicht hatte, wurde der inzwischen ausgereifte Ansatz beigegeben. Bei 24 oder 25° R wurde die Maische in den Gärbottich abgelassen und dort 5—6 Stunden vergoren. Die Süßmaische wurde nach 2 Stunden Zuckerbildung auf 22—23° R abgekühlt und unter Zugabe einiger Hektoliter Wasser zur Sauermaische gegeben und der Gärung überlassen. Nach 7—8 Stunden, vom Zeitpunkte des Anstellens gerechnet, ist die Reife des Hefeschaumes eingetreten.

Kausch (Halensee).

**Peglioni, Vitt.,** Interno al un caso di emiparasitismo del Rhacodium cellare Pers. (Atti della R. Accademie de Lincei. 1905. No. 12.)

In den alten Weinkellern, wo die Regeln der Kellerpflege mehr oder weniger vernachlässigt werden, entwickelt sich häufig ein charakteristischer Schimmel, der die Faßreifen in einer dicken, aber weichen und braunen Schicht bedeckt, ebenso die Holzgeräte und die seit langem aufbewahrten Flaschen. Es ist dies das Rhacodium cellare Pers., das von den alten georgianischen Forschern vielfach angeführt wird. Wer es aber eigentlich genau bestimmte, war Persoon und nach ihm beschrieben dann verschiedene Autoren summarisch seinen Bau. Verf. stellte mit diesem Pilz eine Reihe von Untersuchungen an. Von besonderem Interesse ist dabei für uns, wie Verf. der Entwickelung des Pilzes auf den Kastanien gefolgt ist, die infolge dieses Pilzes schwarz werden.

Bringt man nämlich die geschwärzten Kastanien in ein feuchtes Zimmer, so findet eine so starke Pilzvermehrung statt, daß dieselben die Früchte mit einer einige Centimeter starken Schicht bedecken. In den Aufbewahrungsräumen der Kastanien ist diese enorme Schimmelproduktion nicht selten und nötigt oft zur Zerstörung großer Quantitäten so ungenießbar gewordener Kastanien.

Sowohl in dem einen wie in dem anderen Falle wird das zuerst silberweiß aussehende Mycelium nach und nach grau und dann dunkelbraun. Gleichzeitig wird es brüchig und zerfällt in unregelmäßige Stücke, wenn daran gestoßen wird.

Auf nahrungsarmem Boden wird das Mycelium rasch schlaff und wird von einem dünnen, weißen Beschlag überzogen, der nachher ins Graue übergeht.

Bei der mikroskopischen Prüfung ergab sich eine Struktur, die eine

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr starke Aehnlichkeit aufwies mit der des Myceliums des Rhacodium cellare, das Schröter schon im Jahre 1884 beschrieben hat. Es ist dies eine Anhäufung von Hyphen, die sich verzweigen und untereinander verschlingen. Die Abzweigungen laufen im spitzen Winkel aus oder auch orthogonal. Die Hyphen selbst sind ungefähr 4—5 $\mu$ groß. Sind sie jung, so haben sie eine hyaline, glatte Wand, die mit der Zeit braun und uneben wird. Die Extremität der Hyphen ist größtenteils leicht angeschwollen, beulig. Die Hyphen selbst werden nach und nach stark brüchig. Oft kommt man in die Lage, die von dem verstorbenen Berlese an den Hyphen des Cladosporium wahrgenommene Erscheinung beobachten zu können, nämlich die Verlängerung der ausgewachsenen braunen Hyphen vermittels Ausstoßens einer zuerst farblosen Hyphe, die sich häufig als conidiophore Hyphe erkennen läßt.

Die Bildung der Conidiophoren ist auf den an plastischem Material armen Substraten besonders reich. Auf der Höhe der Hyphen oder seitwärts derselben treten Abzweigungen aus, die einfach oder aber zusammengesetzt sind, auf deren Höhe kleine Ketten von Konidien wahrgenommen werden, die an die Fruktifikation des Cladosporium, Hormodendron, Cladothrichum etc. erinnern.

Verf. stellt noch eine Reihe anderer Tatsachen fest, und glaubt dann zu dem Schlusse gelangen zu können, daß diese Veränderung der Kastanien, die sich zuweilen alles zerstörend weit ausbreitet, von einer Infektion herrühre, die während der Aufbewahrung der Früchte in feuchten Kellern oder Speichern vor sich geht, wo das Rhacodium cellare seiner Entwickelung besonders behagende Verhältnisse vorfindet. Verf. glaubt, daß durch Räucherungen der zur Aufbewahrung der Kastanien bestimmten Räume mit Schwefelsäureanhydrit- oder Formalindämpfen die daselbst vorhandenen Myceliumformationen zerstört werden. Verf. behält sich vor, später mitzuteilen, wie weit die verschiedenen antiseptischen Mittel praktisch verwertbar sind. Bertarelli (Turin).

**Harden** and **Young,** The alcoholic ferment of Yeast-Juice. (Proceed. of the Royal Soc. London. Series B. Vol. LXXVII. B. 519. p. 405.)

Die gelegentliche, auch von Buchner und Rapp[1]) gemachte Beobachtung, daß Zugabe von gekochtem Hefesaft die fermentative Spaltung der Glukose durch gewöhnlichen Hefesaft proportional der zugefügten Menge beschleunigt, veranlaßte die Verff., diese auffallende Erscheinung experimentell zu verfolgen. Hinsichtlich der Einzelheiten der interessanten Untersuchungen, die auch für die Praxis der Gärungstechnik von großer Wichtigkeit werden dürften, muß auf das durch zahlreiche Tabellen und Kurventafeln vortrefflich erläuterte Original verwiesen werden. Die hauptsächlichsten Resultate, soweit die Verff. selbst sie als feststehend betrachten, sind folgende:

Die fermentative Spaltung der Glukose durch Hefesaft ist abhängig von der Gegenwart einer dialysierbaren Substanz, die durch Hitze nicht zerstört wird, ebensowenig wie durch Antiseptika.

Der Vorgang der Fermentation der Glukose durch gekochten Hefesaft verläuft in zwei Stadien, von denen das erste charakterisiert ist durch schnelles Anwachsen der Kohlenoxydproduktion, das zweite da-

1) Ber. Bd. XXXII. 1899. p. 2093.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegen durch Konstanz dieses letzteren Vorganges bis zum Schlusse der fermentativen Wirkung überhaupt. Die auf diese Weise produzierten $CO_2$-Mengen übersteigen die durch gewöhnlichen Hefesaft gewonnenen wesentlich.

Die anfängliche Steigerung der Zuckerspaltung wird, wie Versuche mit anorganischen Phosphaten beweisen, veranlaßt durch die mit Magnesiamixtur fällbaren Phosphorverbindungen des gekochten Hefesaftes, und zwar liefert jedes Atom Phosphor ein Molekül Kohlendioxyd mehr.

Weiterer Zusatz von gekochtem Hefesaft oder Phosphatlösung hat erneute starke Spaltung des Zuckers zur Foge bis zu einer bestimmten, durch die Natur des verwendeten Hefesaftes gegebenen Grenze.

Hat die gewöhnliche Fermentierung mit Hefesaft einmal ihr Ende erreicht, so bleibt Zusatz von gekochtem Saft oder Phosphatlösung wirkungslos. Der entwickelten Kohlendioxydmenge entspricht auch die Menge des gebildeten Alkohols, so daß es sich um eine echte Alkoholgärung in gesteigerter Intensität handelt.

Die zugefügten Phosphate sind nach Schluß der intensiven Spaltung nicht mehr mit Magnesiamixtur fällbar und neigen die Verff. der Ansicht zu, daß sich Phosphorsäureester bilden.

Experimente über diese und mehrere andere noch nicht geklärte Fragen, speziell die zweite konstante Phase der Spaltung, sind im Gange.

Vageler (Königsberg).

**Wortmann, Julius**, Die wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft. Mit 30 Textabbildungen. Berlin 1905.

Das vorliegende Buch ist für die Praxis geschrieben. Es verfolgt die Aufgabe, weiteren Kreisen der Praxis zu zeigen, daß die sicheren Grundlagen der Weinbereitung und der Kellerwirtschaft nicht in der schablonenhaften Anwendung von überlieferten Verfahren oder von immer nur für vereinzelte Fälle passenden Vorschriften gegeben sind, sondern daß sie im wesentlichen auf biologischen Erscheinungen und physiologischen Vorgängen beruhen, welche sich vor, während und nach der Gärung in dem Gärmateriale abspielen.

Mit diesen Worten beginnt Verf. sein Vorwort, und damit ist das Hauptgepräge des Buches gegeben. Man merkt sofort, daß Verf. Botaniker ist. Der Biologie und der Physiologie ist hier diejenige Stellung eingeräumt worden, auf welche sie durch die Untersuchungen der letzten Dezennien in der Tat Ansprüche bekommen haben. Ein großer Teil des Inhalts hat Verf. früher in einer Reihe verschiedener Abhandlungen publiziert, besonders in Thiels „Landwirtschaftlichen Jahrbüchern“, in dem vorliegenden Werke aber ist alles zu einem Ganzen gesammelt worden und das Resultat ist ein so vorzügliches Buch geworden, daß man leicht die geringen Fehler, welche sich vereinzelt in den Literaturangaben finden, übersieht.

Der Inhalt des Buches ist der folgende: I. Teil: Einleitung. Die

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

verschiedenen in den Mosten und Weinen auftretenden Organismenarten. II. Teil: Die Veränderungen, welche die Organismen in den Mosten und Weinen verursachen, und III. Teil: Die Krankheiten des Weines.

Die einzelnen Teile sind in den folgenden Kapiteln geteilt:

I. Teil: Kurzer Abriß der Entwickelung unserer Kenntnisse und Anschauungen von den Gärungsvorgängen. — Der Erreger der alkoholischen Gärung. — Verschiedene Arten und Rassen der Hefe. — Andere Gärungsorganismen des Mostes. — Die Bakterien des Weines. — Die Schimmelpilze.

II. Teil: Die durch die Hefe bei ihrer Vegetation im Moste bewirkten Veränderungen. — Die Atmung der Hefe und die alkoholische Gärung. — Weitere von der Hefe während der Gärung gebildete wichtige Bestandteile des Weines. — Der Einfluß der Temperatur auf die Gärung. — Die Verwendung der Reinhefe in der Praxis. — Der Säurerückgang im Weine. — Die Abstiche der Weine und die Behandlung der Weine bei ihrem weiteren Ausbau im Fasse und auf der Flasche.

III. Teil: Krankheiten und Fehler der Weine. Trübungserscheinungen. — Infektionskrankheiten. Essigstich, Kahmigwerden, Zähewerden. — Das Böcksern der Weine. Der Stopfengeschmack. Das Bitterwerden der Rotweine.

Hieran schließt sich noch ein ausführliches Register; nach jedem Kapitel findet sich eine kurze Literaturübersicht.

Nicht allein der Praktiker wird dieses Buch mit Freude begrüßen, dasselbe gilt aber auch von jedem, der sich mit dem Studium der Gärungsorganismen und der Gärungschemie beschäftigt. Es findet sich namentlich hier ein Reichtum interessanter biologischer Untersuchungen gesammelt, und was nicht am wenigsten dieses Buch über andere ähnliche Werke erhebt, ist die vorzügliche Sprache, in welcher es geschrieben ist. Man studiert es mit dem größten Vergnügen und es wird gewiß schnell einen großen Leserkreis erwerben. Klöcker (Kopenhagen).

**Kayser, E.** und **Manceau, E.,** Sur la maladie de la graise des vins. (Compt. rend. de l'Academie des sciences, 19. März 1906.)

Nach einem kurzen Rückblick auf die über das Zähewerden der Weine vorliegenden Arbeiten von Pasteur, Kramer, Börsch, Aderhold, Meissner, Mazé und Pacottet teilen Verff. eine gedrängte Zusammenfassung ihrer eigenen, seit mehreren Jahren angestellten Versuche mit. Als Ausgangsmaterial für die Züchtung der in Betracht kommenden Organismen benutzten sie junge, stark fadenziehende Weine der Champagne, der Vendée und der Yonne.

Die isolierten Schleimbakterien sind deutlich stäbchenförmig und stimmen in manchen Beziehungen mit den von Gayon gezüchteten Mannitbakterien überein. Mit zunehmendem Alter nehmen sie das Aussehen sehr langer, dünner und verwickelter perlschnurähnlicher Fäden an und bilden schließlich am Grunde des Nährmediums eine schleimige, zähe Masse.

Die untersuchten Organismen (aus 3 verschiedenen Weinen wurde anscheinend das gleiche Bakterium isoliert) waren vorzugsweise anaërober Natur. Im luftleeren Raum sind sie sehr lebhaft, in gefüllten und gut verschlossenen Gefäßen nimmt ihre Beweglichkeit ab, um in nur halbgefüllten und nur mit Wattestopfen verschlossenen Flaschen fast ganz zum Stillstand zu kommen. Bei einer 15 Minuten dauernden Er-

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

hitzung auf 50—55° werden sie getötet, ihr Optimum liegt bei ungefähr 30° C.

Es wurden sowohl künstliche Nährlösungen als auch Weine für die Versuche benutzt. Als geeignete künstliche Nährlösung zum Studium der Ernährungsverhältnisse und Stoffwechselprodukte erwies sich eine Lösung von 10 g Pepton, 10 g Lävulose, 0,5 g Kaliumphosphat, 0,1 g Magnesiumsulfat in 1 Liter Wasser. Die Lävulose ist für die Entwickelung unbedingt nötig, ebenso das Pepton, obwohl von letzterem schon geringe Mengen genügen. Im allgemeinen werden stark stickstoffhaltige Medien gefordert. Ammoniaksalze, Harnstoff, Asparagin, Allantoin, Albumin aus Eiern und Ichthyokoll kommen als Stickstoffnahrung nicht in Betracht. Bemerkenswert ist der Einfluß des Säuregehaltes der Nährlösung. Während das Zähewerden bei einem Zusatz von 1,5 g Apfel-, Bernstein- oder Weinsäure oder 1 g Zitronensäure pro Liter noch ziemlich deutlich auftritt, wird es über diese Dosen hinaus immer schwächer, um schließlich ganz auszubleiben. Aehnlich wirkt ein Zusatz von Alkohol, während Essigsäure selbst beim Zehnfachen dieser Dosen keinerlei Wirkung zeigt. Ein Zusatz von 1,5 g Weinstein pro Liter verhindert das Zähewerden, doch macht sich eine schädigende Wirkung auf die Erreger selbst erst bei 6 g pro Liter bemerkbar. Bei der angegebenen Zusammensetzung der Nährlösung wurden auf 100 g Lävulose erhalten 60—62 g Mannit, 20—23 g Milchsäure, 11—12 g Essigsäure mit Spuren höherer Fettsäuren, 3—4 g Kohlensäure und 1,5—2 g Alkohol. Wasserstoff wurde nicht erhalten. Bei Ersatz der Lävulose durch Glukose bildete sich weniger Milchsäure, Essigsäure und Alkohol. Wurde statt Lävulose Saccharose angewendet und die Lösung schwach angesäuert, so wurde der Rohrzucker invertiert zu Glukose und Lävulose und ergab dann die Zerfallsprodukte dieser beiden Zuckerarten, wobei die Lävulose am schnellsten zersetzt wird. Bei Ersatz der Lävulose durch Galaktose wird diese aufgezehrt.

Bezüglich der Beurteilung des Weines als Nährmedium erwies sich dessen Gehalt an freier Säure, Alkohol und Stickstoff von großem Einfluß auf die Entwickelung des fadenziehenden Bakteriums. Der Gesamtsäuregehalt kommt weniger in Betracht. Das Zähewerden stellte sich noch bei einem Zusatz von 0,4 g pro Liter ein. An Antiseptika, wie schwefelige Säure, Fluorverbindungen lassen sich die Organismen gewöhnen. Beim Wachstum im Weine konnte stets die Bildung von Mannit und aktiver Milchsäure festgestellt werden. Das Schleimigwerden geht Hand in Hand mit der Vermehrung der Bakterien in der Flüssigkeit, nach einigen Monaten verschwindet aber selbst in versiegelten Flaschen der Schleim, wobei sich die Organismen als zähe Masse auf dem Boden absetzen. Eine Erhitzung auf 80° läßt ebenfalls die Schleimbildung verschwinden.

Bedingungen, unter denen ein Wein leicht schleimig wird: Eine Vorbedingung dafür ist die Anwesenheit von Zucker im Wein, besonders in Form von Lävulose; aber auch seine übrige Zusammensetzung muß der Vermehrung der Mikroorganismen günstig sein. Die wichtigsten Faktoren hierfür sind: freie Säure, Alkohol, stickstoffhaltige Substanzen und Kalisalze. Langsam gärende oder steckengebliebene Weine sind dem Zähewerden deshalb mehr ausgesetzt, weil die Kohlensäure die Organismen vor dem Einfluß der Luft schützt. Alle diese Bedingungen finden sich bei manchen Weißweinen der Champagne, die deshalb auch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in dem Rufe stehen, leicht zähe zu werden, und vor allem bei den als Haustrunk dienenden Weinen. Auch die moussierenden Weine der Champagne zeigen oft eine schwache Entwickelung des Schleimbakteriums.

Boetticher (Geisenheim).

**Hempel, Walther,** Ueber die Gewinnung einwandsfreier Milch für Säuglinge, Kinder und Kranke. (Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 300.)

Peinlichste Reinlichkeit beim Milchgewinnungsgeschäft ist unerläßlich und bürgt mehr für wirkliche Reinheit der Milch als das Erhitzen. Nach Hesse fanden sich 3 Wochen nach Aussaat auf Albumosenährboden in sogenannter „Kurmilch" und in Milch, die angeblich nach gesundheitlichen Grundsätzen gewonnen wurde, etwa 35000 Keime, in pasteurisierter Ladenmilch und in angeblich sterilisierter Milch 280000 und 370000 Keime, dagegen in der von Hempel empfohlenen Ohorner Milch 1600 Keime. Die auf dem Gute Ohorn getroffenen Maßnahmen zur aseptischen Milchentnahme (Probetuberkulinimpfung der Milchkühe, abgesonderter und eigens ausgestatteter Melkraum, aseptische Zurichtung der Melkkuh und des Melkenden u. s. w.) werden eingehend beschrieben.

Georg Schmidt (Berlin).

**Savage,** The coagulation of milk by Bacillus coli communis. (The Journ. of Pathol. and Bacteriol. Vol. X. 1905. p. 90.)

Die Gerinnung der Milch durch Bac. coli communis wird in beinahe allen Fällen durch Säurebildung, wahrscheinlich Milchsäure, hervorgerufen. Bei Stämmen, die erst nach einigen Tagen Gerinnung bewirken, ist dies die Folge einer verminderten Säurebildung. Nur in einer sehr beschränkten Anzahl zweifelhafter Fälle, in denen die Milch erst nach einigen Tagen zur Gerinnung kommt, ist diese von einem Enzym verursacht. Die Gerinnung beginnt bei 32° Säure und ist gewöhnlich bei 40° beendet. In den verschiedensten Coli-Stämmen, die auf Milch gezüchtet wurden, ist ein Enzym vorhanden, das indes für gewöhnlich zur Einleitung der Gerinnung keine Rolle spielt. Es tritt erst später in Wirkung, indem es das lösliche Kaseinogen in unlösliches Kasein umwandelt.

H. Ziesché (Leipzig).

**Köstler,** Ueber die chemische Zusammensetzung der Molke und der Käsemasse während der eigentlichen Fabrikation des Emmentalerkäses. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1906. Heft 5.)

Von den drei Hauptphasen der Käsefabrikation

1) Gewinnung und Behandlung des Rohstoffes,
2) Scheidung der frischen Käsemasse von der Molke,
3) Behandlung des geformten Käses

sind bezüglich der zweiten, die ebenfalls weitgehende Bedeutung besitzt, in der Literatur nur vereinzelte Angaben enthalten, die Verf. durch seine Arbeit erweitern und zu deren eingehenderem Studium, besonders was die chemischen Veränderungen der Milch und ihrer Scheidungsprodukte während dieser ganzen Periode anbelangt, er anregen möchte.

Die vom Verf. durchgeführten Untersuchungen erstrecken sich auf spezifisches Gewicht, Fettgehalt, Trockensubstanz, Milchzucker, Stickstoffsubstanzen, Gesamtasche und deren Bestandteile, wofür die benutzte

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Methodik angegeben wird. Verf. kommt auf Grund seiner umfangreichen Untersuchungen (welche übrigens Parallelbestimmungen fast durchgehends vermissen lassen) zu folgenden Schlußsätzen:

1) Durch den üblichen Labzusatz wird die chemische Zusammensetzung der Kesselmilch nur in der Hinsicht verändert, daß der Gehalt an löslichen Stickstoffsubstanzen gesteigert wird.

2) Der Einschluß dieser löslichen Stickstoffsubstanzen in den Käsebruch kann durch die Anwendung verschiedener Fabrikationsverfahren vielleicht bis zu einem bestimmten Grade reguliert werden; wahrscheinlich spielt dieser Stickstoff zum Teil die Rolle des vom Käser als „Gärstoff" bezeichneten Materials, und es kommt ihm bei den ersten Gärungsprozessen des Käses vielleicht ein biologisch bedeutsamer Wert zu.

3) In den ersten Minuten des sogenannten „Vorkäsens" findet ein Rückgang des Eiweiß- und Fettgehaltes der Molke statt, vermutlich die Folge eines nachträglichen Gerinnungsprozesses.

4) Gegen Ende der Fabrikation wird von der Bruchmasse wieder etwas Fett abgegeben, was sich durch eine Zunahme des Fettgehaltes der Molke erkennbar macht.

5) Der zuerst von Bächler konstatierte Säurerückgang während der Fabrikation beträgt im Mittel von 38 Untersuchungen 0,41° (ccm Viertel-Normalkalilauge auf 100 ccm Molke). Derselbe findet mit großer Regelmäßigkeit statt, ist beim sogenannten „Vorkäsen" relativ am größten und läßt sich zur Hauptsache auf ein Entweichen flüchtiger Säure, besonders Kohlensäure, zurückführen.

6) Der Gehalt der Molke an Gesamtasche nimmt während der Verarbeitung ab, der wasserlösliche Teil der letzteren erfährt im Gegensatz zum unlöslichen eine Steigerung. Der Gehalt an Phosphorsäure und Kalk wird vermindert, was darin Erklärung findet, daß hauptsächlich während des sogenannten „Nachwärmens" eine des Kalkes und der Phosphorsäure beraubte, demnach aschenarme Molke aus dem Käsebruch austritt, was auch durch die Aschenanalyse des Käsebruches bestätigt wird. Die chemische Zusammensetzung der eigentlichen Grundsubstanz der Käsemasse erfährt während der normalen Verarbeitung im Käsekessel keine nachweisbare Veränderung.

7) Die infolge des Labzusatzes auftretende koagulierende Kraft der Molke bleibt während des „Vorkäsens" konstant; mit Erreichung der „Nachwärme"temperatur (50—60° C) hört die Labfermentwirkung auf.

8) Die Ursache der raschen Säurezunahme der vom Käse ablaufenden Molke setzt sich mit großer Wahrscheinlichkeit aus vier Faktoren zusammen:

a) Zunahme der Konzentration der Molke.

b) Milchsäuregärung, begünstigt durch anaërobe Verhältnisse und hohe Temperatur.

c) Steigerung des Gehaltes an löslichem Stickstoff in der ablaufenden Molke und damit Deckung des bei dieser ausnahmsweisen Wärme großen Stickstoffbedürfnisses der Milchsäurebakterien.

d) Gegenseitige Steigerung von Wachstum und Funktionsintensität nahe zusammenliegender Keime in der gallertartig festen Masse des Käsebruches. Ehrenberg (Breslau).

**Hesse,** Untersuchungen von Wässern, die für Molkereizwecke bestimmt sind. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 12.)

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Verf. berichtet über eine große Anzahl von Molkereiwasserproben, welche im Laboratorium der milchwirtschaftlichen Zentralstelle zu Güstrow untersucht wurden, leider nur chemisch. Von den Ergebnissen, auf die im übrigen verwiesen sei, ist hervorzuheben, daß gegrabene Brunnen bedeutend höheren Salpetersäure- und Ammoniakgehalt zeigten als Bohrbrunnen. Ursache wird die geringere Tiefe und das dadurch erleichterte Eindringen von Zuflüssen aus Jauchegruben, Düngerstätten u. dergl. sein. Ehrenberg (Breslau).

**Gorini,** Ricerche batteriologiche sul formaggio Gorgonzola. (Atti della R. Accad. dei Lincei. Vol. XV. Fasc. 5.)

Es ist allgemein bekannt, daß die Charakteristik des Gorgonzolakäses in der Gegenwart grüner Flecken im Innern des Teiges besteht. Diese Flecken, die das Aussehen der Petersilie haben, werden mit einem Mailänder Wort „erborinature" genannt. Sie sind an die Entwickelung eines Schimmelpilzes der Art des Penicilliums gebunden.

Da nun dieser Mikrobe sehr oft lange auf seine Manifestationen warten läßt, und zwar länger als es dem Verkäufer angenehm ist, der den Wünschen seiner Kundschaft entsprechen möchte, so haben erstere die Gewohnheit angenommen, den Käse an verschiedenen Stellen anzustechen, um die Luft eintreten zu lassen. Diese empirische Handlung wird nun von der Mikrobiologie erklärt, die uns lehrt, daß die eingetretene Luft die Entwickelung des vorgenannten Schimmelpilzes befördert. In der Tat ist es nicht schwierig zu beobachten, daß die Flecken gewöhnlich längs der Stichkanäle stärker ausgeprägt sind.

Wer jedoch häufig Gelegenheit hatte, Gorgonzola zu beobachten, hat sicherlich wahrgenommen, daß er außer den vielgewünschten grünen Flecken auch solche anderer Farbe besitzt, die für ihn einem Fehler gleichkommen.

Um nun diesen Fehler zu entfernen, ratet Verf., genau wie bei den Roquefort zu verfahren, die auch angestochen werden, aber erst dann, wenn sie gereinigt und abgeschabt sind.

Verf. hat sich nun gefragt, wie sich die Häufigkeit dieser Defekte in dem berühmten Gorgonzola erklären lasse, und kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu folgendem Ergebnis.

Eine der anormalen Färbungen, die Verf. am häufigsten im Gorgonzola begegnen, ist die rote oder rosarote Farbe, die unter Form von Streifen und zuweilen sogar unter Form von wahren Geoden hier und da den Teig des Käses durchzieht. In einem vom Verf. beobachteten Falle konnte er mittels isolierender Kulturen das Vorhandensein eines Bacteriums vom Typus des B. lactis erythrogenes Hüpke beobachten, der dort so reichlich und so deutlich auf die rote Zone beschränkt hervortrat, daß Verf. nicht der geringste Zweifel darüber blieb, daß ihm der genannte Defekt zugeschrieben werden müsse.

Verf. wollte nun den Ursprung dieses Keimes feststellen. Nach aufmerksamen Beobachtungen konnte Verf. feststellen, daß der Sitz der roten Flecken in innigem Zusammenhang stand mit den künstlich vorgenommenen Stichkanälchen im Teige des Käses zu dem vorgenannten Zwecke. Die rötlichen Streifen verfolgten mit anderen Worten den Weg des Stichkanals, gingen von der Außenfläche aus und drangen gegen das Innere der Masse vor. Das veranlaßte Verf. nachzuforschen, ob derselbe Mikrobe sich auch auf der Oberfläche des Käses vorfindet. Die Nachforschungen gaben ein positives Resultat, denn von der Kruste des



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gorgonzola konnte ich neben anderen Mikroben verschiedener Art Vertreter des B. erythrogenes isolieren. Es war also logisch, zu vermuten, daß besagter Keim in den Käse eben durch die Stichkanäle gelangt ist. Bertarelli (Turin).

**Politzer, Arnold,** Der Leuconostoc mesenterioides in der Melassebrennerei. (Oesterreich. Brennereiztg. Jahrg. IV. 1906. No. 6.)

Verf. weist auf den Schaden hin, den der eine zähe Gallerte in den Melassemaischen bildende Leuconostoc mesenterioides bei der Gärung anzurichten vermag, und fordert zur Bekanntgabe der Erfahrungen und Beobachtungen auf, die beim Auftreten dieses Mikroorganismus in der Melassebrennerei bisher gemacht worden sind.

Kausch (Halensee).

**Kossowicz, Alexander,** Die Zersetzung des französischen Senfs durch Bakterien. (Zeitschr. f. d. Landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1906. p. 111.)

Ein in einer inländischen Fabrik fertig hergestellter französischer Senf zeigte sowohl im Lagerfaß als auch in den Senftiegeln nach einigen Tagen bis Wochen spontan auftretende Zersetzungen, indem er Querrisse, die mit Gasblasen angefüllt waren, bekam, einen eigentümlich tranig-ranzigen Geruch und Geschmack annahm und eine Entmischung der festen und flüssigen Bestandteile zeigte. Aus dem frisch gemahlenen Senf wie auch aus den gut verschlossenen Senftiegeln konnten zwei Spaltpilze, Bacillus sinapivorax und Bac. sinapivagus, isoliert werden, deren Morphologie und Physiologie vom Verf. kurz angeführt wird. Ersterer Spaltpilz erzeugt im französischen Senf Gasbildung, wobei der Senf auch die eingangs charakterisierte Geruchs- und Geschmacksveränderung erfährt, während der zweite Organismus wohl keine Gasbildung im Senf hervorruft, dagegen aber denselben entfärbt, seine Entmischung beschleunigt und seinen Geruch und Geschmack verschlechtert. Außer der direkten Einwirkung der beiden Mikroorganismen auf Tafelsenf ist auch die Möglichkeit einer direkten Einflußnahme von Bakterien möglich, die sich durch Gasbildung bemerkbar macht. Um daß Aufkommen der Spaltpilze im französischen Senf tunlichst zu hindern, hat man im Senföl und in der Essigsäure (also im Senf selbst) in entsprechenden Konzentrationen kräftige Pilzgifte. Da eine 5-proz. Essigsäure, die die Senfzersetzung für längere Zeit hintanhält, den Senf zu stark sauer macht, ist Senföl geeigneter. Da Essigzusatz die Senfölbildung aus Sinigrin verlangsamt und nach einiger Zeit hemmt, so ist vorerst die Senfmaische mit stark verdünntem Essig ($^1/_2$—$1^1/_2$ Proz.) — an Stelle von Wasser — anzustellen, durch kräftiges Mischen (sehr wichtig) wird dann die Senfölbildung und zugleich die Entwickelungshemmung der Bakterien gefördert und erst nach 6—12 Stunden stärkerer Essig zugesetzt. Auch in der öfteren Wiederholung des Mahlvorganges hat man ein Mittel, der Bakterienwirkung entgegenzutreten und bereits in Zersetzung begriffenen Senf zu verbessern. Der Senf verändert sich auch mechanisch, indem nach einiger Zeit eine Entmischung des Senfs stattfindet, derart, daß sich der Essig von den festen Teilen abhebt; ist der Senf sehr konsistent, so tritt ein Vertrocknen desselben ein, wobei auch seine Farbe dunkler wird. Zu den chemischen Veränderungen zählt das Ranzigwerden der im Senfsamen enthaltenen fetten Oele durch Oxy-

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dationsvorgänge, welche die Bakterienwirkung ergänzen. Gegen die beiden letzten Störungen schützt am besten ein guter Verschluß der Senftiegel. Sehr zu empfehlen ist ein gutes Dämpfen, bezw. die Sterilisation der Stopfen und die Anbringung eines Lack- oder Paraffinüberzuges von außen. Stift (Wien).

**Bergtheil,** The study of fermentation as applied to agriculture. (Agric. Journ. of India. 1906. p. 68.)

In dem Artikel behandelt Verf. alle Beziehungen der „Fermentation", definiert als „chemical changes taking place under the action of living matter" zur Landwirtschaft. Bei dieser weitgefaßten Definition fallen unter den Begriff „Fermentwirkung" in erster Linie die durch Bakterien hervorgerufenen Aenderungen des Nährstoffkapitals des Bodens, speziell der stickstoffhaltigen Verbindungen. Verf. weist darauf hin, daß es völlig falsch ist, die bisherigen Ergebnisse der bodenbakteriologischen Forschung, die fast ausschließlich in gemäßigten Klimaten gewonnen sind, wie es teilweise gerne geschieht, ohne weiteres auf tropische Verhältnisse zu übertragen. Namentlich das Verhalten des Stickstoffes ist jedenfalls ein völlig abweichendes, da Böden Indiens, die bei der Analyse einen Minimalgehalt an Stickstoff zeigen, nichtsdestoweniger geradezu phänomenale Ernten hervorzubringen vermögen.

In zweiter Linie ist entsprechend der Definition das ganze Pflanzenleben ein fermentativer Prozeß, wie ja auch, namentlich bei der Keimung der Samen, schon Fermente direkt nachgewiesen sind.

Vageler (Königsberg).

**Kunze,** Ueber Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung. (Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. 1906. p. 357.)

In einer historischen Einleitung behandelt Verf. zunächst die Entwickelung der Frage von der Zeit an, da Humbold u. A. die Sekrete als „Pflanzenkot" auffaßten bis zur heutigen Zeit. Von neueren Arbeiten über den Gegenstand finden die Untersuchungen von Sachs, Prianischnikoff, Molisch, Czapek und Göbel eingehendere Besprechung.

Verf. hat in erster Linie versucht, die chemische Natur des Wurzelsekretes festzustellen. Entsprechend den Angaben Czapeks, ließen sich stets Kalium und Calcium, desgleichen auch Phosphate nachweisen. Auf die Art der Bindung der Phosphorsäure ließen sich sichere Schlüsse nicht ziehen, doch glaubt Verf. sich zu der Annahme berechtigt, daß die Czapeksche Behauptung, es handele sich dabei um $KH_2PO_4$, das sich mit den Chloriden des Bodens umsetze, mindestens unbewiesen sei. Ganz abgesehen davon, daß eine Verschwendung der ohnehin meist knappen Phosphorsäure durch die Pflanzen nicht sehr wahrscheinlich sei. Verf. scheint, wie auch Jost schon früher angenommen hat, die Hauptmenge der gefundenen Salze aus abgerissenen Wurzelhaaren zu stammen und ist darauf bei den Versuchen Rücksicht genommen.

Trotzdem die verwendeten Keimlinge von Balsamine hortensis eine starke Säureproduktion zeigten, erwiesen sich die sezernierten Mengen als so geringe, daß eine Bestimmung nicht möglich war.

Korrosionsversuche an den häufigsten gesteinbildenden Mineralien sowie an verschiedenen Glasarten hatten das Ergebnis, daß nur Marmor



Digitized by Google — Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Wollastonit und von Gläsern ein Bleiglas der Jenaer Glashütte bei 10-tägiger Einwirkung sich für die Pflanzenwurzeln als angreifbar erwiesen. Daß entgegen sonstigen Angaben Apatit nicht angegriffen wurde, erklärt sich Verf. durch die Struktur der verwendeten Platte, eines großen Einzelkrystalles. Da Pflanzen mit stark saurem und wenig saurem Wurzelsekret dieselbe Einwirkung auf die Mineralien zeigten, so handelt es sich hierbei anscheinend wesentlich um Kohlensäurewirkung.

Bei Kulturversuchen in gepulverten Gesteinen ergab sich, daß in nährstoffreichen Mineralien, wie Granit und besonders Leuzitbasalt, die Pflanzen besser gediehen als in Quarzsand, und zwar abstufend nach der sauren Reaktion des Wurzelsekretes. Aber selbst bei genügender N-Ernährung und Zugabe von Gips und Apatit war das Wachstum ein so minimales, daß Verf. „es als sichergestellt betrachtet, daß die höheren Pflanzen nicht im stande sind, unverwittertem Gestein die nötigen Nährsalze zu entnehmen".

Es folgt eine tabellarische Uebersicht über die Stärke der Säureproduktion der Wurzeln einer großen Anzahl von Pflanzen, wegen deren sowie wegen der daran geknüpften, oft wohl noch sehr des Beweises bedürftigen, Folgerungen (was übrigens Verf. selbst betont), auf das Original verwiesen werden muß. Der Umstand, daß überraschend viele Pflanzen überhaupt keine Säure in ihrem Wurzelsekret nachweisen ließen und (nach Ansicht des Verf.) der Kohlensäure ein wesentlicher Einfluß auf die Aufschließung des Bodens nicht zukommt, legte es nahe, nach anderen dahin wirkenden Faktoren zu suchen.

Verf. findet diesen Faktor in der Säureausscheidung der im Humusboden namentlich stets reichlich vorhandenen Pilze. Polierte Mineralstücke, die mit mycelreichem Boden belegt wurden, zeigten weit stärkere Korrosionserscheinungen als unter der Einwirkung der Wurzeln. Pilzkulturen auf Gesteinpulver, entsprechend den oben beschriebenen Versuchen mit höheren Pflanzen, führten zum gleichen Resultat. (Es bleibt zu untersuchen, wie weit dabei aus dem verwendeten Zuckerwasser, vielleicht auch aus dem Ammonnitrat stammende Säuren, beteiligt sind. D. Ref.)

Daß den Pilzen ein hoher Einfluß auf die Bodenzerlegung zukommt, geht aus den Versuchen hervor und sind sie in hohem Grade geeignet, zu weiteren Untersuchungen auf diesem Gebiete anzuregen.

Vageler (Königsberg).

**König, J.,** Einige neue Eigenschaften des Ackerbodens. — In Gemeinschaft mit **Hasenbäumer** und **Coppenrath**. Vorläufige Mitteilung. (Die landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. LXIII. Heft 5 u. 6. p. 471.)

Verf. macht Mitteilungen 1) über das Verhalten des Bodens beim Dämpfen, 2) über die katalytische Kraft des Bodens gegenüber Wasserstoffsuperoxyd, 3) über Herstellung dauerhafter, bei Bestimmung des osmotischen Druckes des Bodens verwendbarer hemipermeabeler Membranen.

Das Dämpfen des Bodens wurde in der Absicht vorgenommen, die absorptiv gebundenen Bodennährstoffe in Lösung überzuführen. Im Falle des Gelingens der Löslichmachung war Hoffnung vorhanden, daß man auf diesem Wege zu einem Verfahren, die für die Pflanzen aufnehmbaren Nährstoffe analytisch zu bestimmen, würde kommen können. Das Dämpfen erfolgte in der Weise, daß der Boden in Wasser gebracht und 3 Stunden auf 4 Atm. erhitzt wurde. Die darauffolgende Bestimmung der in Wasser

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelösten Stoffe ergab solche Mengen, namentlich von Phosphorsäure und Kali, daß auf eine erfolgte Aufschließung absorptiv gebundener Bodenbestandteile geschlossen werden mußte.

Verf. stellt ferner fest, daß der Ackerboden die Eigenschaft besitzt, Wasserstoffsuperoxyd unter Entwickelung von Sauerstoff zu zersetzen. Durch Messung des Sauerstoffvolumens, das von einem bestimmten Quantum Erde in bestimmter Zeit entwickelt wird, lassen sich vergleichbare Werte über die katalytische Kraft verschiedener Böden gewinnen. So wurde unter gleichen Bedingungen vom Sandboden 10,5 ccm, vom Tonboden 100 ccm und vom Kalkboden 148 ccm Sauerstoff gebildet. Erhitzen des Bodens unter Druck, sowie Behandlung mit Sublimat, Chloroform und Jod setzte die katalytische Kraft des Bodens sehr stark herab; durch Blausäure wurde sie fast ganz aufgehoben. Bodenkonstituenten, wie Sand, Kalk oder Kaolin, gaben für sich mit Wasserstoffsuperoxyd keine oder (bei Kaolin) nur eine ganz geringe Gasentwickelung. — Die katalytische Wirkung des Bodens könnte durch Enzyme (Katalasen) oder durch anorganische Kolloide verursacht werden. Verf. ist der Ansicht, daß beide Ursachen wirksam sind, daß aber die Enzymwirkung die größere Rolle spielt.

Besonderes Interesse verdient der Versuch des Verf., das osmotische Verfahren für die Bodenuntersuchung nutzbar zu machen. Es ist möglich, daß sich auf diese Weise größere Klarheit über die chemischen Umsetzungen im Boden gewinnen läßt, und daß sich bestimmte Unterschiede zwischen den verschiedenen Bodenarten feststellen lassen. Ein unbedingtes Erfordernis zur Bestimmung des osmotischen Druckes von Lösungen ist die hemipermeabele Membran. Es handelt sich also darum, eine solche in praktisch brauchbarer Form herzustellen. Dem begegnen aber Schwierigkeiten. Verf. fand, daß nach den von verschiedenen Forschern gegebenen Vorschriften keine für den vorliegenden Zweck brauchbare Membran zu erhalten ist. Er suchte deshalb nach einem neuen Verfahren und erhielt zweckdienliche Membranen auf folgende Weise: Chamberland-Pasteursche Filterkerzen wurden mit verdünnter Kalilauge und Salzsäure gereinigt, dann mit 7-proz. Gelatinelösung getränkt und in einem evakuierten Exsiccator den Dämpfen von Formaldehyd ausgesetzt. Durch Einlegen in Wasser unter Absaugen der Luft wurde die Zelle gleichmäßig mit Wasser durchtränkt und darauf innen mit einer 4,2-proz. Ferrocyankaliumlösung gefüllt und in eine 5-proz. Kupfersulfatlösung gehängt. Nach 2 Tagen wurde die innere 4,2-proz. Ferrocyankaliumlösung durch eine 8-proz. Lösung ersetzt und die Zelle wieder auf 2—3 Tage in die alte Kupfersulfatlösung gebracht. Nach gründlichem Auswaschen war die Zelle dann gebrauchsfertig. Statt Gelatine und Formaldehyd konnte auch Eieralbumin und Tannin zur Dichtung der Tonzellen verwendet werden.

Verf. hofft, daß es ihm gelingen werde, weitere Schwierigkeiten, die der praktischen Anwendung des osmotischen Verfahrens noch entgegenstehen, zu überwinden. Behn (Dahlem).

**Kayser.** Les microbes du sol. (Annal. de la science agron. Sér. 2. 1905. p. 432.)

Der in der Hauptversammlung der Société nationale d'encouragement à l'agriculture am 23. März 1905 gehaltene Vortrag behandelt den derzeitigen Stand unseres Wissens von den „infiniment petits“ des Bodens.

Nach einer kurzen historischen Einleitung werden die Methoden der

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bakteriologischen Bodenforschung skizziert und die biologischen Verhältnisse, speziell der Bodenbakterien, kurz gestreift. Als allbekannt nur erwähnt ist die Rolle der Bakterien im Stalldünger, speziell die Umlagerung des Harnstoffes zu kohlensaurem Ammonium. Ausführlicher behandelt ist die Nitrifikation, desgleichen die Denitrifikation, wobei Verf. scharf gegen die übertriebene Furcht vor den Denitrifikationsbakterien, die vielfach zu ganz falschen Maßregeln geführt hat, auftritt. „On peut dire que dans les conditions normales, ces microbes ne jouent qu'un rôle secondaire."

Der letzte Teil des Vortrages ist der Fixierung des atmosphärischen Stickstoffes durch die Mikroorganismen gewidmet; Anwendung der Forschungsergebnisse in der Praxis bildet den Schluß.

Vageler (Königsberg).

**Koch, A.,** Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. Vortrag, gehalten am 4. Dez. 1903 in der Oekonomischen Gesellschaft im Königreich Sachsen. Dippoldiswalde (Druck v. C. Jehne). 20 p.

Nach einem einleitenden Hinweis auf die bekannten Erfolge Carons mit seiner ausgedehnten Brachewirtschaft gibt der Vortragende einen Ueberblick über unsere bisherigen Kenntnisse der Bakterientätigkeit im Ackerboden, speziell der am Kreislauf des Stickstoffes mitwirkenden Bakteriengruppen, und über die Bemühungen der Technik, den atmosphärischen Stickstoff für die Landwirtschaft nutzbar zu machen. Dabei werden eingehender behandelt die stickstoffassimilierenden Bakterien, ihre allgemeine Verbreitung, ihre Lebensbedingungen und die mögliche Beeinflussung ihrer Tätigkeit durch geeignete Bodenbehandlung. Ueber letzteren Punkt führt der Vortragende zum Schluß eine Reihe eigener Versuche an, nach denen ein mehrmonatiges Umschaufeln von Boden den Stickstoffgehalt desselben und auch die auf demselben erzielten Ernteerträge wesentlich erhöhte. Der günstige Erfolg einer Bodendurchlüftung ist also zum guten Teil mit der gesteigerten Stickstoffassimilation durch die Bodenbakterien zuzuschreiben. Auch die wasserbindende Kraft des Bodens wurde durch das Umschaufeln um fast 20 Proz. erhöht. Eine ausgiebige Bodenbearbeitung, wie sie bei der Schwarzbrachewirtschaft durchgeführt wird, muß also nach dem jetzigen Stande der bakteriologischen Forschung als ein vorzügliches Mittel bezeichnet werden, die im Boden sich abspielenden Prozesse im günstigsten Sinne zu beeinflussen. Boetticher (Geisenheim).

**Stoklasa, J.,** Ueber die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobacter und Radiobacter. Unter Mitwirkung von **Adolf Ernest, Johann Trnka** und **Eugen Vítek.** (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft. Bd. XXIV. 1906. Heft 1. p. 22—32.)

Verf. stellt fest, welche Mengen Stickstoff innerhalb bestimmter Zeit von Azotobacter chroococcum und von Radiobacter in Nährlösung festgelegt werden und beschäftigt sich des weiteren mit Untersuchungen über Menge und Art der Umsetzungsprodukte, die bei der N-Assimilation durch Azotobacter aus den Kohlenstoffverbindungen gebildet werden.

Radiobacter zeigte die Eigenschaft der N-Assimilation nur in

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr geringem Grade. In Synergie mit Azotobacter setzte er sogar die Wirksamkeit des letzteren herab.

Azotobacter sammelte in einer Nährlösung, die aus Moldauwasser mit 2 Proz. Mannit und 0,05 Proz. Kaliumbiphosphat bestand und zu 250 ccm portioniert war, in 10 Tagen bei 25° pro Liter 75 mg, in 15 Tagen 90 mg und in 20 Tagen 125 mg Stickstoff. Ein größerer Effekt in der N-Assimilation wurde erzielt, wenn die Nährlösung statt Mannit die gleiche Menge Glukose und außerdem noch 0,025 Proz. $Na_2CO_3$ enthielt. Der N-Gewinn nach 15-tägiger Kultur betrug dann durchschnittlich 116 mg pro Liter Nährlösung. Die Glukose wurde dabei ganz oder zum größten Teil zersetzt. Im Durchschnitt wurden auf 1 g Stickstoff 165 g Glukose verbraucht. Der Stickstoff fand sich ausschließlich in unlöslicher Form vor; ein Befund, der mit den Beobachtungen von Beijerinck und van Delden übereinstimmt.

Zur Bestimmung der Menge des Kohlendioxyds, die während der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter gebildet wird, wurden je 500 ccm einer Nährlösung, bestehend aus Moldauwasser mit 2 Proz. Mannit, 0,05 Proz. $K_2HPO_4$ und 0,001 Proz. $Na_2CO_3$, in große Kolben gebracht, sterilisiert und mit Azotobacter geimpft. Durch die bei 25° gehaltenen Kolben wurden vom 3. Tage an täglich 20 Liter keim-, $CO_2$-, $N_2O_5$- und $NH_3$-freie Luft oberhalb der Flüssigkeit hindurchgeleitet. Es ergab sich, daß die $CO_2$-Entwickelung in der Zeit vom 4. bis zum 10. Tage am stärksten war. In 18 Tagen wurden pro Kolben durchschnittlich 7,2 g $CO_2$ gebildet. Um Aufschluß über das Verhältnis von Bakterienmasse zur gebildeten $CO_2$ zu bekommen, wurde die Bakterienmasse abgeschieden und das Trockensubstanzgewicht derselben ermittelt. So konnte festgestellt werden, daß 1 g trockene Bakterienmasse durchschnittlich 1,27 g $CO_2$ in 24 Stunden ausatmet. Danach ist Azotobacter ein sehr intensiv atmender Organismus, denn gleiche Mengen von dem denitrifizierenden Bacterium Hartlebi und dem Ammonisator Clostridium gelatinosum lieferten in derselben Zeit nur 0,6 resp. 0,48 g $CO_2$.

Um zu ermitteln, welche Abbauprodukte der Kohlenstoffverbindungen bei der N-Assimilation auftreten, wurde eine Nährlösung, welche in 1000 ccm Moldauwasser 20 g Mannit resp. Glukose und 0,5 g $K_2HPO_4$ enthielt, zu je 1 Liter in große Kolben gefüllt und nach Sterilisation und Impfung mit Azotobacter bei 25° gehalten. Nach 7-tägiger Kultur, während welcher die Kolben täglich gelüftet wurden, fand eine Bestimmung des Alkohols und der Fettsäuren statt. Es wurden als Abbauprodukte des Mannits pro Liter gefunden: 402—640 mg Alkohol, 248—353 mg Milchsäure, 624—700 mg Essigsäure und in einem Falle auch 95,6 mg Buttersäure. Die Mengen dieser Stoffe gingen bei längerer Kultur erheblich zurück. Bernstein- und Ameisensäure fehlten. Der Abbau der Glukose verläuft ähnlich, nur bildet sich in diesem Fall auch Ameisensäure. An Gasen traten ausschließlich $CO_2$ und Wasserstoff auf, und zwar von letzterem nur relativ geringe Mengen. Verf. hält es jedoch für wahrscheinlich, daß viel größere Mengen Wasserstoff entstehen, als bei der Analyse gefunden werden; der Wasserstoff kann zum Teil in statu nascendi zu Wasser oxydiert werden.

Verf. schreibt den Abbau von Mannit und Glukose der Wirkung glykolytischer Enzyme zu und glaubt, daß die Bildung von Wasserstoff eine wichtige Rolle bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs spielt.

Behn (Dahlem).

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Perotti, R.**, Distribuzioni dell'Azotobacterio in Italia. (Atti della R. Accad. dei Lincei. Vol. XV. Fasc. 5.)

Die Form des Azotobacteriums, das Verf. schon früher aus einem Terrain Roms isoliert hat, und die dann noch eingehender studiert worden ist hinsichtlich der morphologischen Eigenschaften und des Verhaltens gegen die verschiedenen Nährböden, muß nach Verf. unzweifelhaft mit der Species A. chroococcum Beijerinck identifiziert werden. Auch nachdem Verf. einen Vergleich mit einer Reinkultur des A. chroococcum, die er sich von dem Bakteriologischen Laboratorium von Dr. Král in Prag zusenden ließ, angestellt hatte, wurde seine Ueberzeugung eben durch diesen Vergleich noch mehr bekräftigt. Verf. hat dann seine Versuche fortgesetzt und sich dabei besonders bei den morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten aufgehalten.

Dabei hat er weiterhin wahrgenommen, daß das Azotobacterium in ungleichen und voneinander entfernten Gegenden Italiens vorkommt, und zwar mit einer Beständigkeit, die sehr zu Gunsten der Vermutung spricht, daß es in allen Bodenstücken Italiens sich vorfindet.

In Abhängigkeit von der physisch-chemischen Natur des Bodens wird sich die Form im Zustande mehr oder weniger großer Aktivität vorfinden können, was in dieser Studie das Verhalten der Reinkulturen erklärt, die alle in denselben Raum- (Temperatur, Licht etc.) Verhältnissen gehalten worden sind. Ganz besonders ist die Entwickelung bemerkenswert, die mit den Azotobakterien Rietis, Messinas und Congulas erhalten wurde. Man muß also doch wohl dafürhalten, daß diese Gelände eine gewisse Fruchtbarkeit haben, wie dies auch tatsächlich der Fall ist.

Bertarelli (Turin).

**Jamieson,** Utilisation of nitrogen in air by plants. (Agricultural Research Association. Aberdeen 1905.)

Wenn es schon im allgemeinen schwer ist, durch bloße Lektüre, und sei sie noch so gründlich, sich ein richtiges Urteil über Wert und Tragweite einer wissenschaftlichen Arbeit zu bilden, so ist dies im vorliegenden Falle ein völliges Ding der Unmöglichkeit. Ruf und Stellung Jamiesons sind derartig, daß seine Stimme wohl Gehör finden muß, namentlich da es sich um neue Gesichtspunkte handelt, die, wenn sich die Forschungen des Verf. bestätigen, geeignet sind, die theoretische und praktische Behandlung des Stickstoffproblems in der Landwirtschaft von Grund aus umzugestalten. Andererseits klingen seine Mitteilungen dem modernen Agrikulturchemiker so, gelinde gesagt, ungewohnt, daß vielleicht die Mehrzahl der Fachgenossen sie überhaupt keiner Prüfung für wert halten wird.

Letzterer Standpunkt ist jedenfalls ungerecht. Mögen gründliche, penible Nachprüfungen Jamiesons Ergebnisse und Folgerungen als Irrtümer sich erweisen — was hiermit noch keineswegs etwa prophezeit werden soll — es bleibt ihm das Verdienst, neue Möglichkeiten gewiesen und mindestens eine nur erfreuliche Revision unseres physiologisch-anatomischen Wissens von der Pflanze veranlaßt zu haben. Nur die Zukunft kann darüber die Entscheidung bringen.

Im folgenden sei der Inhalt der durch zahlreiche farbige Abbildungen erläuterten Arbeit kurz wiedergegeben:

Nach einer historischen Einleitung über die Entwickelung der Frage der Stickstoffernährung der Pflanzen wendet sich Verf. zu einer eingehenden Kritik der heutigen Anschauungen über die N-Ernährung der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leguminosen, in welcher er, gestützt vornehmlich auf Untersuchungen von Vuillemin und Frank, die freilich ihrer Zeit wenig Anerkennung gefunden haben, zu folgenden Schlüssen kommt: Leguminosen können auch ohne jedes Knöllchen zu kräftigen Pflanzen erwachsen, jedenfalls haben die Knöllchen mit der Bindung von Stickstoff nichts zu tun. Vielmehr entsprechen die Knöllchen der Leguminosen durchaus auch an vielen anderen Pflanzen zu beobachtenden pathologischen Bildungen und ihr Erreger ist kein Spaltpilz, sondern ein echter Pilz, dem selbstverständlich von vornherein die Fähigkeit, Stickstoff zu fixieren, abzusprechen ist. „Die große Zahl und Häufigkeit solcher Knöllchen gerade bei den Leguminosen kann nicht überraschen — es ist dies das ganz natürliche Resultat aus dem reichen Stickstoffgehalt der höheren Pflanze einerseits und dem Stickstoffhunger des Pilzes andererseits.“ Von einer Fixierung des Stickstoffes durch Bakterien ist gar keine Rede.

Den Beweis für die Richtigkeit dieser Behauptungen bleibt Verf. nach Ansicht des Ref. allerdings in sämtlichen Punkten schuldig. Um nur ein Beispiel anzuführen: Die Wirkung von Bodenimpfung für Leguminosenanbau mit Leguminosenerde erklärt sich Verf. etwas gezwungen damit, daß irgend ein kleiner Umstand beim Bodenimpfen die Pflanzen zu kräftigem Wachstum, der Grundbedingung zur Entfaltung aller Fähigkeiten, also auch der Fähigkeit, N zu fixieren, anrege, wozu „the fertilising material in the ‚infecting‘ addition may be sufficient“. Die Erfolge der Samenimpfung werden gänzlich ignoriert, desgleichen alle Forschungen, die die Ergebnisse seiner Hauptgewährsmänner als Irrtümer und Beobachtungsfehler erwiesen haben, namentlich bezüglich der Pilznatur der Knöllchenerreger. Auf so wenig anerkanntes Material so schroffe Schlüsse zu basieren, ohne sich dabei auf eigene, einwandfreie Untersuchungen zu stützen, ist ein recht gewagtes Unternehmen, und kann dieser Kritik wenig Gewicht beigelegt werden.

Desto mehr Interesse beanspruchen die nachfolgend hier natürlich nur kurz skizzierten langjährigen eigenen Untersuchungen des Verf., deren Resultat er gleich im Anfange gewissermaßen als Motto dahin zusammenfaßt, „daß die Pflanzen ganz allgemein freien Stickstoff direkt aus der Luft aufnehmen und in Eiweiß umwandeln“.

Bei Pilzen, reinen Saprophyten oder Parasiten, ist N-Assimilation von vornherein höchst unwahrscheinlich, bei Bakterien wohl möglich, einwandsfrei nachgewiesen bis jetzt nur bei Algen (? Ref.), d. h. bei grünen Zellen. Alle höheren Pflanzen weisen aber solche grüne Zellen auf, und zwar speziell in ihren Blättern, in welchen demnach die Organe zur Assimilierung des freien Stickstoffes zu suchen sein müssen.

Die Blätter sind zur Stickstoffassimilation aber nur dann befähigt, wenn ihre Epidermis außerordentlich dünn ist, und dies gilt nicht nur für die gesamte Epidermis, sondern vor allem für ganz spezifisch ausgebildete Haare der Blätter oder Blattstiele und Stengel, in denen Verf. die einzelnen Assimilationszentren gefunden zu haben glaubt.

Durch Anwendung der üblichen Reagentien auf Eiweiß (Jod, Kupfersulfat, Millons Reagens) gelang es ihm, nachzuweisen, daß die „Albumingeneratoren“, wie er bestimmte Haare von zelligem Aufbau nennt, in ihrer Scheitelzelle Eiweiß in großen Mengen produzieren,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dessen Stickstoff nur der Luft entstammen kann. Denn mühsame Untersuchungen lehrten, daß nur in voll ausgebildetem Zustande diese Zelle Eiweiß enthält, dann aber zuerst allein von allen Zellen des Haares, und daß von ihr aus erst das Eiweiß zur Pflanze wandert.

Verf. hat seine diesbezüglichen Untersuchungen auf 17 Pflanzenarten, darunter die verbreitetsten Unkräuter, z. B. Spergula arvensis, Urtica dioica etc., und Kulturgewächse, z. B. Vicia sativa, Avena sativa etc., ausgedehnt. Alle Pflanzen, die bei starker Ausbildung der Blattorgane wenig Stickstoff im Boden verlangen, selbst aber N-reich sind, gaben positive Resultate bei der Suche nach „Albumingeneratoren“, viele in Beziehung auf N-Ernährung anspruchsvollere Gewächse dagegen, vor allem — was mit den bisherigen Erfahrungen gut übereinstimmt — die Gramineen, negative. Nur Holcus lanatus schien hier eine Ausnahme zu machen, da dieses Gras geringe N-Assimilation erkennen ließ.

Alle diese Untersuchungen sind nur qualitativ und als solche höchst interessant und bedeutsam, wenngleich mit allen bisherigen Erfahrungen im Widerspruch und auch theoretisch einstweilen kaum verständlich. Es bleibt abzuwarten, inwieweit Nachprüfungen sie bestätigen oder modifizieren. Um die Ergebnisse aber mit Aussicht auf Erfolg auf die Praxis zu übertragen, dazu müssen erst einmal quantitative Daten vorliegen, die nicht gerade einfach zu erhalten sein dürften, und auf Grund dieser Daten angestellte Versuche. Ueber deren Aussichten schon jetzt in irgend einer Weise im voraus ein Urteil fällen zu wollen, ist ein müßiges Unternehmen. Ein Verdienst bleibt Jamieson, wie schon bemerkt, in jedem Falle, das Verdienst der neuen und sicher irgendwie fruchtbringenden Idee.

Vageler (Königsberg).

**Heinze, Berthold,** Sind Pilze im stande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? (Annal. mycologici. Jahrg. IV. Berlin 1906. No. 1. p. 41—63.)

Azotobacter-Organismen und gewisse Clostridium-Arten haben erwiesenermaßen die Fähigkeit der N-Assimilation. Bei manchen anderen Organismen ist die Fähigkeit der N-Assimilation von verschiedenen Seiten zwar behauptet worden, aber bisher noch nicht einwandsfrei bewiesen worden. 1) Blaugrüne Algen sind nach Verf. im stande, den elementaren N zu verarbeiten, zwar nicht so stark wie die Azotobacter-Organismen, welche nicht mit Unrecht als farblose Parallelformen zu gewissen Cyanophyceen angesprochen werden. Verf. konnte das Ergrünen bei Kulturen dieser Organismen nachweisen. 2) Ob Schimmelpilze wirklich den elementaren N verarbeiten können, ist immer noch fraglich. Versuche über die eigentlichen Streptothrix-Pilze wären sehr erwünscht. 3) Wenn man auch Pilze mit voller Berechtigung nicht als direkte Stickstoffsammler ansprechen darf, so muß man sie zunächst als sogenannte indirekte N-Sammler bewerten und schätzen, da sie in ähnlicher Weise wie die Algen den zur Zeit praktisch wichtigsten N-sammelnden Organismen (nämlich den Azotobacter-Organismen) C-Nahrung in Form von Mannit, Glykogen etc. und weiterhin aber C-Nahrung auch besonders in Form von Salzen verschiedener or-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ganischer Säuren zu liefern vermögen. 4) Bei Rohkulturen von Azotobacter konnte man das Auftreten von Kohlenwasserstoffen der Acetylenreihe feststellen. 5) Verf. konnte schon 1903 darauf hinweisen, daß man bei der mikrobiologischen N-Bindung bezüglich der ersten Assimilationsprodukte wahrscheinlich mit der Bildung von Aminosäuren, vielleicht zunächst mit der Bildung von karbaminsauren Salzen zu rechnen hat. Durch weitere Bildung von hochmolekulären Aminosäuren und deren gegenseitige Kuppelung würde man stufenweise schließlich allmählich zu den Organismeneiweißkörpern gelangen. Eine wesentliche Stütze erhält das Gesagte durch die neuesten Untersuchungen von Emil Fischer. Nach den phänomenalen Untersuchungen dieses Forschers dürfte die Gewinnung des künstlichen Eiweißes nur noch eine Frage der Zeit sein — und an einem ähnlichen Verlaufe der mikrobiologischen Eiweißsynthese ist also kaum noch zu zweifeln.

Ueber diese gründliche Arbeit konnte nur kurz referiert werden, weil es unmöglich ist, alle Details und die sich ergebenden Fragen zu skizzieren. Wichtig ist das gründliche Verzeichnis der Literatur.

Matouschek (Reichenberg).

**Haselhoff** und **Bredemann**, Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1906. Heft 3.)

Verff., außer denen noch Gössel und Süchting an vorliegender Arbeit beteiligt waren, gingen bei ihren Untersuchungen von der bekannten Ansicht Henrys aus, daß abgestorbene Blätter die Fähigkeit besitzen, freien Stickstoff zu binden. Ueber eine diesbezügliche Veröffentlichung Süchtings ist bereits in dieser Zeitschrift (Bd. XIV. p. 342) referiert worden.

Zunächst geht der Bericht auf die zur Kultur und Isolierung der mit Winogradskys Clostridium Pasteurianum mehr oder weniger verwandten Anaërobier ein. Hierbei wurde teils nach besonderen Methoden, vorwiegend aber nach Winogradsky gearbeitet. Von den verschiedenen in Benutzung genommenen Nährböden ermöglichten meist nur die mit stickstofffreier Nährlösung getränkten Gipsplatten, über die aber auch noch nicht genügende Erfahrungen vorliegen, die Erhaltung des Stickstoffassimilationsvermögens der Bakterien in vollem Umfange. Die Herstellung von Reinkulturen derselben erwies sich als äußerst schwierig, gelang z. B. bei Clostridien aus Erdboden nur in 2 Fällen.

Die so aufgefundenen Formen, deren die Abhandlung 7 unterscheidet, stammten aus verschiedenen Erdböden, von dürren wie von grünen, frisch gepflückten Blättern, endlich aus verdorbenen Konserven.

Bei den nun folgend beschriebenen Gärungsversuchen mit Reinkulturen wie mit Rohkulturen gelang es im allgemeinen nicht, die von Winogradsky pro Milligramm Dextrose erzielten Stickstoffaufnahmen zu erreichen; die assimilierten Stickstoffmengen schwanken meist um 1 mg Stickstoff pro Gramm Dextrose, erreichen seltener den Wert von 2 mg und finden ihren höchsten Wert in 2,741 mg.

Bezüglich der nun folgenden morphologischen Beschreibung der isolierten Formen muß auf das Original verwiesen werden. Nur sei erwähnt, daß die neuen Clostridienformen, soweit sich diesbezügliche Angaben finden, z. B. Stärke, Mannit, Laktose und andere, dem Wino-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gradskyschen Ferment unzugängliche Stoffe vergären können, teilweise auch Glycerin.

Zum Schlusse wird über Impfversuche mit Clostridienkulturen in Vegetationsgefäßen berichtet, bei denen in Vegetationsgefäßen, wie sie Schulze bei seinen Alinitversuchen benutzt hatte (Landw. Jahrbücher. 1901. p. 317) 3,1 kg eines sehr nährstoffarmen, weißen Sandes unter Zugabe der nötigen Mineraldüngung Verwendung fanden. Nach erfolgtem 1-stündigen Erhitzen bei $1^1/_2$ Atmosphären wurden sterilisierte Buchweizenkörner und teilweise eine Sporenaufschwemmung des betreffenden Clostridiums in die Gefäße eingeführt. Der Erfolg der Versuche, bezüglich deren sich die Verff. ausdrücklich dagegen verwahren, daß ihre Ergebnisse als Empfehlung der Bodenimpfung mit stickstoffsammelnden Bakterien aufgefaßt werden, ist in folgender Tabelle auszugsweise wiedergegeben:

| Impfung des Bodens | Entwickelung der Pflanzen | reife Körner | Ernte pro Topf | Zunahme an Stickstoff während der Vegetationszeit |
|---|---|---|---|---|
| | Boden nicht sterilisiert: | | | |
| Nicht geimpft | Mittelkräftig | 22 | 1,21 g | 0,00458 g |
| „ „ | „ | 20 | 1,50 g | 0,00924 g |
| Clostridium α | „ | 27 | 1,23 g | 0,06144 g |
| „ α | Sehr kräftig | 25 | 1,14 g | 0,11472 g |
| „ γ | Mittelkräftig | 25 | 1,23 g | 0,00843 g |
| | Boden sterilisiert: | | | |
| Nicht geimpft | Kräftig (nach 6 Wochen verfärben sich die Blätter teilw.) | 30 | 2,23 g | 0,01626 g |
| „ „ | kräftig | 17 | 1,02 g | 0,00492 g |
| Clostridium α | Groß und kräftig | 13 | 1,02 g | 0,05982 g |
| „ α | „ „ „ | 14 | 0,98 g | 0,09024 g |
| „ γ | Klein und dürftig | 17 | 0,66 g | 0,00654 g |
| „ γ | „ „ „ | 19 | 0,70 g | 0,00582 g |
| | Boden 4 Wochen nach dem Sterilisieren bestellt: | | | |
| Nicht geimpft | Mittelkräftig | 30 | 1,35 g | 0,01140 g |
| Clostridium α | Anfangs kümmerlich, dann normal | 14 | 0,77 g | 0,00708 g |
| „ α | | 5 | 0,47 g | 0,06030 g |
| „ γ | Groß und kräftig | 39 | 2,32 g | 0,07936 g |
| „ γ | „ „ „ | 36 | 2,23 g | 0,01410 g |

Versuche, bei denen den Bakterien in den Vegetationsgefäßen noch Dextrose, Peptonlösung oder beides zur Verfügung gestellt wurde, mißlangen.

(Der von den Bakterien — übrigens für die Parallelgefäße in teilweise recht verschiedener Menge — gesammelte Stickstoff scheint, soweit die Tabelle hierüber Auskunft gibt, den Buchweizenpflänzchen für ihre Vegetation keinen Nutzen gebracht zu haben. Bezüglich der teilweise erreichten Stickstoffassimilation erscheint es auffallend, daß, während bei Kultur in Nährlösungen unter günstigsten Bedingungen pro Gramm Dextrose nur 2,7 mg gesammelt werden konnten, in 3,1 kg des sehr nährstoffarmen Sandes der Gefäßversuche sich genug für die Clostridien resorbierbare Energiequellen fanden, um Stickstoffassimilationen bis 115 mg zu vermitteln.) Ehrenberg (Breslau.)

**Kambersky,** Ueber den Einfluß der Nährstoffsalzimprägnierung auf die Keimung der Samen. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1906. Heft 1.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verf. wurde durch ein von Issleib-Bielefeld empfohlenes Verfahren der Samendüngung, über das schon von der Versuchstation Bromberg ein ungünstiges Urteil vorlag, veranlaßt, zum Zweck einer kritischen Nachprüfung an dies Verfahren heranzutreten.

Die genau nach Issleibs Vorschrift mit Ammoniumnitrat, Kaliumnitrat, Ammoniumphosphat und Natriumphosphat imprägnierten Samen ergaben im Vergleich zu dem gleichen, nicht imprägnierten Saatgut folgende Keimfähigkeitszahlen:

| | Imprägniert: | Nicht imprägniert: |
|---|---|---|
| Weizen | 7 Proz. | 99 Proz. |
| Roggen | 69 „ | 96 „ |
| Gerste | 78,5 „ | 96,5 „ |
| Hafer (3-jährige Samen) | 14 „ | 65,75 „ |
| Mais (schlechte Qualität) | 0 „ | 57 „ |
| italienisches Raygras | 91,75 „ | 96,75 „ |
| Kammgras | 39,50 „ | 91,50 „ |
| Timothygras | 93,25 „ | 97,50 „ |
| Zuckerrübe | | |
| es keimten Knäuel | 86,00 „ | 87,00 „ |
| Keime pro 100 Knäuel | 225 | 177 |
| weißer Senf | 0 „ | 89 „ |
| Leinsamen | 0 „ | 86 „ |
| Erbsen | 0 „ | 90 „ |
| Sandwicke | 0 „ | 90 „ |
| Inkarnatklee | 0 „ | 86 „ |
| Serradella | 0 „ | ? |

Verf. hebt hiernach die Uebereinstimmung seiner Versuchsergebnisse mit denen der Versuchsstation Bromberg hervor, woraus sich dann auch die gleiche Schlußfolgerung ergebe. Er betont, daß die Keimung bei allen imprägnierten Samen durchwegs später eingetreten sei, und hält nur zur weiteren Nachprüfung der bei den Rübenkernen sichtbar gewordenen günstigen Beeinflussung die Durchführung einer größeren Anzahl von Versuchen für notwendig.

Auch über die von Issleib erwartete günstige Wirkung der Nährsalzimprägnierung bezüglich Abtötens von Rost und Schimmelpilzen äußert sich Verf., muß aber, wenn auch seine diesbezüglichen Versuche noch nicht abgeschlossen sind, doch hervorheben, daß die Imprägnierung eine faulige Zersetzung der Spelzen, Testa u. s. w., und damit das Auftreten von pflanzlichen und tierischen Schmarotzern zur Folge hatte.

Ehrenberg (Breslau).

**Köck,** Ergebnisse mit der Issleibschen Nährsalzimprägnation. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1906. Heft 2.)

Verf. hat Versuche mit der schon häufiger untersuchten Issleibschen Imprägnation des Saatgutes mit Nährsalzen (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1904. p. 714) gemacht, aus denen besonders hervorgeht, daß diese Methode die Keimkraft des Saatgutes erheblich beeinträchtigt. Und zwar wurde bei Rüben, Weizen, Roggen, Möhren und Zwiebeln die Keimfähigkeit um die Hälfte herabgesetzt, bei Gerste, Cinquantinomais und Hafer fast völlig, und bei weißem Senf endlich absolut vernichtet. Ueberdies trat bei imprägnierten Samen Verpilzung besonders stark auf. Auch durch einen ziemlich umfangreichen Feldversuch wurde weitere Aufklärung angestrebt.

(Dieser letzterwähnte Versuch, der zu Gunsten der Imprägnation zu sprechen scheint, dürfte allerdings wegen der erheblichen Unausgeglichen-

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

heit des Versuchsfeldes, Parallelparzellen zeigen z. B. im Rübenertrage Verschiedenheiten von 106—198 bezw. von 130—220 kg, als wertlos zu bezeichnen sein.) Ehrenberg (Breslau).

**Baur, Erwin,** Ueber die infektiöse Chlorose der Malvaceen. (Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. Bd. I. 1906.)

Nach einem einleitenden Rückblick auf die bisher über die Panachierung der Malvaceen gemachten Beobachtungen teilt der Verf. eine Reihe mit Geschick ausgewählter eigener Versuche mit, aus deren Verlauf er folgende Theorie über die Ursache der Panachierung ableitet: In den gelben Partieen der Blattspreite der infektiös chlorotischen Pflanzen wird, und zwar nur im Lichte, ein vorläufig noch ganz unbekanntes „Virus" produziert. Dieses verbreitet sich von Zelle zu Zelle, also nicht im Transpirationsstrom über die ganze Pflanze, und bewirkt, daß alle in einem gewissen Stadium der Entwickelung befindlichen jungen Blätter später ebenfalls buntfleckig werden. Dabei liefern die alten bunten Blätter immer neues Virus zur Infektion der neu entstehenden; wird diese Autoinfektion in geeigneter Weise verhindert, so erlischt die Krankheit. Man kann daher an einer kranken Pflanze durch systematische Entfernung der jungen den Giftstoff aufspeichernden Blätter und damit Entfernung des vorhandenen Virus und durch gleichzeitiges Verdunkeln und Abschneiden der alten Blätter, also eine Verminderung des Zuflusses von neu gebildetem Virus, die Pflanze in kurzer Zeit völlig entgiften und damit rein grünblätterig machen. Durch Pfropfung eines kranken Reises auf eine gersunde Pflanze und den dadurch ermöglichten Säfteaustausch wird auch die Unterlage infiziert und umgekehrt. Die gegen die Chlorose immunen Malvaceenarten lassen den Virus ungeschwächt durch sich hindurchgehen, so daß bei Verwachsung eines immunen Pflanzenstücks, einerseits mit einer kranken Unterlage, andererseits mit einem gesunden, aber empfänglichen Pfropfreis, auch dieses angesteckt wird, während das immune Zwischenstück gesund bleibt. In diesem hypothetischen Virus sieht der Verf. aus verschiedenen Gründen keinen parasitären Organismus, sondern ein Stoffwechselprodukt der kranken Pflanze, das fortdauernd neu gebildet wird und so die Krankheit immer weiter fortpflanzt. Boetticher (Geisenheim).

**Schorstein,** Förderung der Luftmycelbildung auf der Oberfläche verpilzter Hölzer durch Behandlung mit Formaldehyd. (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1905. Heft 6.)

Verf. erzielte durch Uebergießen mit 40-proz. Formaldehydlösung auf künstlich mit Hymenomyceten verpilzten Hölzern nach Ablauf einiger Tage prächtige Luftmycelüberzüge, die Reinkulturen der im Holz vorhandenen Pilze darstellten. Offenbar mußte das Formaldehyd die Protozoen und Bakterien, eventuell auch die Sporen von Schimmelpilzen, die am Holz vorhanden waren, abgetötet haben, wodurch die Luftmycelbildung der Hymenomyceten (Merulius, Polyporus) ermöglicht wurde.

Die gleichen Ergebnisse brachten mehrere Tage in 5-proz. Formaldehydlösung eingetauchte, verpilzte Hölzer, die seit Wochen makroskopisch keine oberflächlichen Pilzspuren zeigten. Etwa 14 Tage nach Beendung des Untertauchens bedeckten sich die Holzstücke mit wolligen Luftmycelien. Kochendes Wasser, 5 Minuten lang einwirkend, schädigte

Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

offenbar auch die Innenvegetation der Hölzer und ließ daher Ergebnisse ausbleiben.

Verf. schließt aus den Versuchen, daß eine Formalindesinfektion zum Zweck der Hausschwammbekämpfung ganz zwecklos wäre, und zweitens, daß nach Eintauchen pilzverdächtiger Hölzer in 5-proz. Formalinlösung binnen 14 Tagen bis 3 Wochen bei 16—20° C im feuchten Raume Lufthyphen erscheinen, falls noch die Bedingungen dafür im Holzinnern vorhanden sind. Auf ähnliche Befunde v. Tubeufs wird verwiesen.

Ehrenberg (Breslau).

**Schorstein, Josef,** Zerstören die Pilze das Xylan? Bemerkungen zum 6. Hefte des III. Bandes der technischen Mykologie von Dr. Franz Lafar. (Centralbl. f. d. gesamte Forstwesen. 1905. Juli.)

Schorstein kritisiert gewisse Behauptungen des Prof. v. Tubeuf und eines seiner Schüler, M. J. Lindroth. Letzterer hatte Birkenholz untersucht, welches durch Polyporus nigricans verändert worden war. Im Innern der Zelle hatte er eine Substanz gefunden, welche er als Holzgummi bezeichnet; diese soll den Reagentien wie auch den Pilzen, welche sie nicht angreifen, einen außerordentlichen Widerstand entgegensetzen. Nun hat Schorstein 1902 ausgesprochen, daß das Xylan, welches nichts anderes ist als Holzgummi und durch besondere Verfahren extrahiert werden muß, da es sich nicht im freien Zustande in der Holzsubstanz vorfindet, einen Teil des Lignins ausmacht und durch Pilze, namentlich durch Merulius lacrymans nachteilig verändert wird. v. Tubeuf hat diese Ergebnisse in der technischen Mykologie von Lafar, in der er das Kapitel über die das Holz angreifenden Pilze geschrieben hat, nicht angeführt.

Prof. v. Tubeuf sagt, daß das Kernholz länger als der Splint widersteht; nicht nur weil es weniger einer nachteiligen Veränderung zugängliche Produkte enthält, sondern weil es Substanzen enthält, die wie das Holzgummi, die Oxydationsprodukte des Tannins und die Farbstoffe wenig angreifbar sind. Schorstein antwortet, daß im Falle von Populus tremula der Splint ebenso dauerhaft sei wie das Kernholz, daß das sehr leicht angreifbare Birkenholz hingegen reich an Xylan ist, und daß schließlich das Kernholz anfängt, sich selbst zu zerstören.

Schorstein behauptet außerdem im Gegensatz zu v. Tubeuf: 1) Es ist festzustellen, daß nach den Angriffen eines Pilzes das Verhältnis des Xylans bedeutend im Holze abnimmt; 2) die durch Wasser aus dem Zellinhalt extrahierten Substanzen geben eine gute Nährflüssigkeit für Schimmelarten, aber nicht für die Hymenomyceten; 3) letztere gedeihen oft besser im Kernholz als im Splint; 4) wenn diese Pilze nur den Zellinhalt verzehren würden, so würde das Holz nur wenig an technischem Werte verlieren; man weiß aber, daß es nicht der Fall ist, und daß die Hymenomyceten als Nahrung die chemischen Substanzen der verholzten Zellwand benutzen. Diese Zerstörung geschieht durch die Wirkung der Hadromase und der Cytase (Czapek). 5) Merulius lacrymans läßt sich nicht auf Watte züchten (reine Cellulose), aber gedeiht gut auf Filterierpapier, welches stets einige Spuren von Xylan enthält; 6) in natürlich verfaultem Holze lassen sich stets nur sehr geringe Mengen von Holzgummi darstellen.

J. Beauverie (Lyon).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**v. Tubeuf, Karl Freih.,** Zur Abwehr der Angriffe von Ingenieur Schorstein. (Centralbl. f. d. gesamte Forstwesen. Wien. Juli 1905.)

Dieser Artikel enthält eine Erwiderung auf die oben erwähnten Angriffe. 1902 berichtete J. Schorstein über von ihm gemachte Versuche, welche darin bestanden, das Holz von Picea excelsa, Pinus silvestris und Fraxinus excelsior mit Agaricineen zu infizieren, deren einzelne Arten er jedoch nicht besonders angibt. Die Vergleichung der infizierten und gesunden Hölzer ergibt nach einigen Tagen ein Verschwinden des Xylans in den ersteren, da es durch die Pilze zerstört ist. Diese Eigenschaft schreibt er nun allen Hymenomyceten zu, insbesondere dem Merulius. Schorstein kündigte 1902 neue, in Gemeinschaft mit Czapek zu unternehmende Untersuchungen an, von denen bis jetzt jedoch noch nichts erschienen ist. Tubeuf hat bei dem geringen Raum, der ihm in der Arbeit von Lafar vorbehalten war, den Gegenstand der Holzveränderungen nicht erschöpfen können. Er schiebt seine Antwort bis zur Veröffentlichung der Schorsteinschen Resultate auf. Dennoch glaubt er bereits einige Bemerkungen hinsichtlich von Behauptungen machen zu müssen, die sich in dem oben erwähnten Artikel finden. So wäre es z. B. kühn, zu behaupten, daß die durch Wasser aus dem Holz extrahierten Elemente des Zellinhalts ein gutes Kulturmedium für die Schimmelarten und nicht für die Hymenomyceten bilden; kühn sei ferner, die im Jahre 1902 aufgestellte Theorie von der Immunisierung des Holzes gegen Pilze mittels eines Serums, welches aus bereits angegriffenem Holze gewonnen worden sei. Schließlich soll der Abschnitt, in dem gesagt wird, daß von faulendem Holz natürlich nur sehr kleine Xylanmengen zu erlangen seien, nicht klar sein. Die Tatsache, daß die Mäulesche Reaktion bei den Koniferen nicht eintritt, war schon von Lindroth festgestellt worden.

J. Beauverie (Lyon).

**Reissinger,** Die Verwendung des Grünfäuleholzes. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 4.)

Die Verwendung des durch Peziza aeruginosa prachtvoll grün gefärbten und gezeichneten Holzes zu Fournieren wird empfohlen. Im Zusammenhang hiermit streift Verf. die Möglichkeit künstlicher Erzeugung solches pilzbefallenen Holzes. Ehrenberg (Breslau).

**McAlpine, D.,** A new genus of Uredineae-Uromycladium (Ann. mycol. Vol. III. 1905. No. 4. p. 303—323. Mit 5 Textabbild. u. 4 Taf.)

Während der Vorarbeiten des Verf. zu einem Werke über die Rostpilze Australiens fand er, daß die auf australischen Akazien auftretenden Rostpilze, welche früher zumeist der Gattung Uromyces zugeschrieben wurden, sich durch eine Anzahl konstanter Merkmale auszeichnen, so daß für die sieben Arten ein neues Genus, Uromycladium, geschaffen werden mußte. Die Arten werden genau beschrieben und abgebildet, zumeist sind es neue: Uromycladium simplex n. sp., U. Robinsoni n. sp., U. bisporum n. sp., U. maritinum n. sp., U. alpinum n. sp., U. notabile (Ludw.) McAlp., U. Tepperianum (Sacc.) McAlp. Es steht zu erwarten, daß die Zahl der Arten bei weiterer und näherer Untersuchung der bisher in dieser Hinsicht noch sehr wenig erforschten 326 Akazienarten eine bedeutend größere ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 14:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das neue Genus unterscheidet sich von Uromyces dadurch, daß die Teleutosporen nicht elliptisch, sondern zusammengedrückt-kugelig und die Vesicula farblos ist; es ist auch mit Ravenelia verwandt, doch eine charakteristische auf Australien beschränkte Gattung.

Matouschek (Reichenberg).

**Hecke, L.,** Die Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung. (Wiener Landwirtschaftl. Zeitung. 1906. p. 318.)

Die Ausführungen des Verf. bilden den Hauptinhalt eines Vortrages, den er bei den Unterrichtskursen für praktische Landwirte an der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien im Februar 1906 gehalten hat. Es werden populär die verschiedenen Brandkrankheiten der Getreidearten erörtert, auf die strengere Unterscheidung dieser Krankheiten hingewiesen und die Art und Weise der verschieden vor sich gehenden Infektion auseinandergesetzt. Je nach der Infektionsart wird sich demnach die Bekämpfung der Brandkrankheiten verschieden gestalten müssen, und hierin liegt die Ursache, daß die Saatgutbeize unter Umständen versagen muß, wie die wiederholten Klagen aus der Praxis beweisen. Die Saatbeize kann bloß bei jenen Brandarten Erfolg haben, welche Keimlingsinfektion aufweisen, und von allen Beizmitteln hat das Kupfervitriol die meiste Verbreitung und von den verschiedenen Methoden der Beizung die nach Kühn die meiste Anerkennung gefunden. Eine lange Beizdauer bei diesem Verfahren hält Verf. für ungerechtfertigt und unnötig. Das praktischste Verfahren dürfte das von Linhart angegebene sein, welches in einer gründlichen Waschung des Saatgutes (mit 1-proz. Kupfervitriollösung), zugleich mit einer kurzen Beize besteht. Bei dieser Beize, welche bei allen Getreidearten angewendet werden kann, ist mit Sicherheit auf brandfreie Ernten zu rechnen, da eine eventuelle Ansteckung durch Brandkeime, die im Boden vorhanden sind, nach Versuchen von Tubeuf nicht wahrscheinlich ist. Von anderen Desinfizierungsmethoden kommen die Heißwasserbehandlung und die Formalinbeize in Betracht. Beide Methoden sind wohl geeignet, eine Desinfektion des Saaatgutes zu bewirken, jedoch stehen sie der Kupferbeize insofern nach, als bei der ersteren die praktische Durchführung schwieriger und eine viel größere Genauigkeit der beiden Methoden nötig ist, um eine Schädigung des Saatgutes zu vermeiden. Die Heißwassermethode (Einbringen des Saatgutes bis zu 15 Minuten in warmes Wasser von 50—54° C) hat sich gegen den Steinbrand des Weizens vollkommen bewährt, Gerste und Hafer scheinen gegen warmes Wasser empfindlicher zu sein, immerhin ist aber die Methode als praktisch brauchbar zu bezeichnen; für kleine Sämereien (Hirse etc.) ist die Methode, wegen bedeutender Schädigung des Saatgutes, nicht anwendbar. Bei der Formalinbeize schädigen lange Beizdauern schon bei sehr geringen Konzentrationen. Im allgemeinen sind bei Formaldehyd die zulässige Konzentration 0,1 Proz., und die Beizdauer 3—4 Stunden; hierauf ist es vorteilhaft, das Saatgut mit Wasser abzuspülen und schnell zu trocknen. Diese Beize ist besonders zu empfehlen nur für kleinere Sämereien, z. B. Hirse und Mohar. Die Saatgutbeize überhaupt kann nur bei Brandarten Erfolg haben, welche durch Keimlingsinfektion die Pflanzen anstecken; bei den anderen Infektionsarten ist sie zwecklos. Schon beim Maisbrand ist die Saatgutbeize nur von untergeordneter Bedeutung, da die am Saatgut anhaftenden Sporen eben nicht direkt die Krankheit durch Keiminfektion erzeugen können, sondern erst indirekt, wenn sie Gelegenheit zur saprophytischen Ernährung und Luft-



Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

konidienbildung finden. Das beste Mittel gegen Maisbrand dürfte in dem Entfernen der Brandbeulen vor der Ernte, sowie aller brandigen Reste, die sich nach der Ernte noch finden, gelegen sein, wozu noch die Vermeidung brandhaltigen frischen Düngers kommt. Bei der Blüteninfektion endlich ist die Saatgutbeize völlig zwecklos; daher auch die Klagen über das Auftreten von Brand trotz Beize, welche sich wohl immer auf den offenen Flugbrand der Gerste und des Weizens beziehen. Diese beiden Brandarten müssen daher in anderer Weise bekämpft werden, und zwar vorbeugend, da, sobald einmal infiziertes Saatgut vorliegt, kaum eine Heilung möglich sein dürfte. Man kann so vorgehen, daß man entweder nur reines Saatgut nimmt oder aber die Brandpflanzen rechtzeitig ausreißt. Bei der Bekämpfung der blüteninfizierenden Brandarten ist ferner auf die Sortenverschiedenheit zu achten; werden Sorten gewählt, welche beim Blühen ihre Spelzen nicht öffnen, oder die schon in der Hose abblühen, dann ist man gegen Brandanfall gesichert. Auch beim Mais machen sich Sortenunterschiede geltend. Es wird also Sache der Züchter sein, bei ihren Neuzüchtungen die Infektionsarten zu berücksichtigen, um brandsichere Sorten zu erzielen. Stift (Wien).

**Vestergren, T.,** Monographie der auf der Leguminosengattung Bauhinia vorkommenden Uromyces-Arten. (Arkif för Botanik. Vol. IV. 1905. No. 15. 34 p. Mit 2 Taf.)

Die auf Bauhinia vorkommenden Uromyces-Arten werden genau beschrieben; es sind ihrer im ganzen 17 Arten. Von diesen kommt nur der Uromyces verruculosus Berk. et Br. in der alten Welt, nämlich in Ceylon auf Bauhinia tomentosa vor. Alle anderen Arten bilden die Gruppe der Reticulatae und leben im tropischen Amerika. Manche Arten, die in die Sektion der Florales zusammengefaßt werden, leben nur in den Blütenständen. Nur die Sektion Pauletia der Gattung Bauhinia wird von den Uromyces-Arten befallen. Matouschek (Reichenberg).

**Tschermak, Erich,** Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und Gerste und das Auftreten von Mutterkorn. (Fühlings landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. LV. 1906. Heft 6. p. 194—199.)

I. Eine in die Länge gezogene Blühdauer des Roggens steigert die Gefährdung durch Mutterkorn; deshalb sind ausgewinterte lockere Roggenbestände, die schon an sich einen absolut wie relativ schlechten Ertrag liefern, geradezu Brutstätten für jenen Pilz und sind umzubrechen. Ein frühzeitiges, sorgfältiges, isoliertes Ausschneiden der kranken Aehren ist infolge der späten Offenbarung der Affektion beim Mutterkorn unmöglich, hingegen beim Brand nach dem Ausschossen vor der Blütezeit zu empfehlen. Begründung: 1) Die Blühdauer wird erhöht durch das Spreizen der Spelzen; durch das letztere werden die Chancen für die durch Wind, noch mehr durch Insekten vermittelte Mutterkorninfektion (entweder durch Uebertragung der fadenförmigen Askosporen oder der Konidiosporen des Sphaceliastadiums) sowie für die Fremdbestäubung vermehrt. 2) Erfahrungsgemäß verharren die Spelzen der Roggenblüte bei Ausbleiben der Bestäubung (z. B. bei am Rande der Parzelle oder isoliert stehenden Pflanzen, auch bei Nachtrieben) oft wochenlang in der Spreizstellung. An solchen Pflanzen findet sich recht oft Mutterkorn. 3) Kastrierte Blüten spreizen die Spelzen auch sehr

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr lange; gab sie Verf. nach 14-tägigem Einschlusse frei, so entwickelten sich doch Sklerotien. Ebenso entwickelten sich stets recht dicke Sklerotien in dem vom Verf. gezüchteten Weizen-Roggenbastarde und bei anderen Bastarden. Die letzteren zeigen sehr geringe Fruchtbarkeit, lange Blühdauer, aber auch viele Sklerotien. 4) Bei schmalährigen Weizenrassen bleibt die 3. Blüte jedes Aehrchens zumeist steril, sie gibt nicht selten den Sitz von Mutterkorn ab. 5) Das Auftreten von Mutterkorn geht also nicht der Fertilität parallel, sondern ist in Fällen von beschränkter oder gar fehlender Fruchtbarkeit zu beobachten. Obzwar in den letzteren Fällen der vom Pollen ausgeübte vegetative Reiz fehlt, so genügt doch die Einwirkung des Pilzmycels auf das Gewebe des Fruchtstandes, um einen gesteigerten Zustrom von Nährstoffen zu veranlassen. Es ist möglich, ja sogar höchst wahrscheinlich, daß das Ausbleiben von Befruchtung an und für sich die Chance für eine wirksame Infektion mit den Pilzsporen erhöht. Des Verf. Infektionsversuche werden vielleicht den experimentellen Beweis ergeben. 6) Verf. konstatiert: Kühles Wetter bedingt eine längere Blütendauer außerhalb der Blattscheide und begünstigt die Eventualität von Fremdbefruchtung, aber auch von Infektion durch Mutterkorn oder Brand. Bei trockener, warmer Luft und trockenem Boden erfolgt das Abblühen sehr rasch, manchmal noch innerhalb der Blattscheide; dann ist die Chance für beides sehr gering. 7) Der Sortencharakter ist sowohl bei der Gerste als auch beim Weizen von erheblichem Einflusse auf die Blühdauer und den Grad der Spreizung der Spelzen, aber auch gegenüber der Infektion durch Mutterkorn und Brand. Das letztere ist allerdings noch experimentell zu beweisen.

II. Bei der Gerste ist Mutterkorn selten. Die Blüten an der Aehrenspitze sind häufig offen, ebenso solche an Späthalmen; daher stellt sich das Mutterkorn dort ein. Starkes Spreizen der Spelzen tritt auch bei nackten Gerstenrassen häufig auf, daher die Fremdbestäubung, aber auch das Mutterkorn sich zeigend. — Aus der kurzen, aber interessanten Arbeit ersieht man, daß sich hier ein reiches Arbeitsfeld eröffnet. Die Resultate werden auch praktische Winke für die Landwirtschaft abgeben.

Matouschek (Reichenberg).

**Briem, H.** und **Strohmer, F.,** Beobachtungen über normale und abnormale Stengelbildung bei Schoßrüben und Untersuchungen über die Wanderung des Zuckers in der Rübe. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. 1906. p. 23.)

Briem beschreibt die von einer normalen Entwickelung abweichende Gestaltung von Samenstengeln zweier Schoßrüben und ist dieselbe botanisch, und zwar in erster Richtung morphologisch interessant, da sie eine ganz abnorme ist. Briem hat sonst das Aussehen der oberirdischen Teile der Schoßrüben bisher immer mit dem Aussehen der zweijährigen Rübe bei ihrer normalen Samenbildung übereinstimmend gefunden. Bei den beiden Schoßrüben war die Stengelbildung nämlich nicht in normaler Weise ausgebildet, als, von den Knotenpunkten ausgehend, keine Seitenzweige entstanden. Ferner fand sich auch nicht die Aufgabe des Samenstengels erfüllt, indem sich am oberen Stengelteile kein Samenansatz gebildet hatte; dagegen entwickelten sich aber oben an den Stengeln, die plötzlich das Wachstum in die Höhe unterbrochen hatten, ganz normale Blattrosetten. Es waren hier Blätter in allen



Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Größen bis zu den kleinsten, jüngsten Herzblättern zu sehen, so daß die gebildete Blattrosette von einer Blätterkrone einer normalen einjährigen Rübe nicht zu unterscheiden war. Eine mechanische Verletzung jedweder Art der in die Höhe gewachsenen Stengel war ausgeschlossen und ihr Wachstum ein natürliches: aus dem Stengel entwickelte sich die Blattrosette, aus der Epidermis des Samenstengels ging fortsetzend die Epidermis der Blattstiele heraus, die Fibrovasalstränge waren vom Stengelglied bis in die Blattstiele in ungestörtem Zusammenhange, die Blätter so normal wie bei jeder gesunden Rübe. Aus dem Langtrieb wurde wieder ein Kurztrieb, aus dem Kurztrieb die Blätterkrone. Briem spricht die zwei Rüben nur als Naturspiel an. Die vorgenommenen Wägungen und Messungen ergaben folgende Zahlen:

| | Rübe A. | Rübe B. mittlerer | Rübe B. rechter Stengel | Rübe B. linker |
|---|---|---|---|---|
| Länge des Stengels | 24 cm | 24 cm | 31 cm | 5 cm |
| Umfang „ „ unten | 19 „ | 9 „ | 7 „ | 10 „ |
| „ „ „ oben | 14 „ | — | — | — |
| Gewicht „ „ | 350 g | 141 g | 95 g | 40 g |
| „ der Wurzel | 1052 „ | | 1020 „ | |

Strohmer hat diese beiden Schoßrüben einer chemischen Untersuchung zugeführt und kommt auf Grund der hier gefundenen Resultate und auf Grund früherer Untersuchungen zu der Feststellung, daß die Saccharose der Rübenwurzel kein Umwandlungsprodukt von aus dem Blatte eingewanderten Monosen dargestellt, sondern daß der Rohrzucker als solcher in dieselbe transportiert wird und auch als solcher hier zur Ablagerung gelangt. Während Rübe A (ein Stengel mit einer Blattkrone) im ganzen 140,2 g Rohrzucker erzeugt hatte, hatte Rübe B (drei Stengel mit je einer Blattkrone; Blattapparat also gleichsam verdreifacht) trotz ihres geringeren Wurzel- und Stengelgewichts (siehe obige Zahlen) in Summa 165,5 g Rohrzucker produziert. Da die beiden Rüben derselben Samensorte entstammten und unter gleichen Versuchsbedingungen erwachsen waren, so können dieselben deshalb als ein geradezu klassisches Schulbeispiel für die wohl heute bereits allgemein angenommene Anschauung, daß unter sonst gleichen Bedingungen der Zuckergehalt der Rübenwurzel in allererster Richtung von einer für die Zuckerbildung günstigen Entwickelung ihres Blätterapparates abhängig ist, gelten. Stift (Wien).

**Hollrung,** Einige Bemerkungen über das Wachstum der Zuckerrüben während des Jahres 1905. (Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. 1906. p. 446.)

Von den Mitteilungen seien nur diejenigen hervorgehoben, welche sich auf das Auftreten der tierischen und pflanzlichen Parasiten der Zuckerrübe beziehen. Dieselben haben im allgemeinen wenig geschadet. Beobachtet wurden mehrmals die Beschädigungen durch die Maden von Tipula pratensis und Bibio hortulans, sowie durch Geophilus und Scolopendra. Atomaria linearis trat stellenweise in ziemlichen Mengen auf, und wird dieser Schädling nur bei schleppendem Wachstum der Zuckerrübenpflänzchen diesen gefährlich, weshalb es rationeller erscheint, Mittel zur Beschleunigung des Wachstums in Anwendung zu bringen, als eine aussichtslose Jagd auf das winzige, im Boden sich aufhaltende und dadurch gut geschützte Käferchen zu unternehmen. Die Rübenblatt-Minierfliege (Anthomyia conformis) hat nur wenig geschadet, und dasselbe war bei Aaskäfern (Silpha spec.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und der grauen Raupe (Agrotis spec.) der Fall. Stärker ist die Gammaraupe (Plusia) aufgetreten, und empfiehlt sich zur Bekämpfung, da die Raupe vielfach aus Nachbarfluren in die Rübenäcker einwandert, das Ziehen von Gräben und eventuell das Einpflügen der befallenen Randreihen. Der Schildkäfer (Cassida viridis) ist mehrfach auf leichteren Bodenarten aufgetreten. Die bedenklichste Erscheinung des Jahres war das stärkere Hervortreten der Nematoden (Heterodera Schachtii) in Landesteilen, welche bisher wenig in dieser Beziehung zu leiden gehabt haben; vorzugsweise waren davon die ost- und norddeutschen Rübenbaubezirke betroffen. Krankheiten pilzlicher Natur wurden nur selten beobachtet, und zwar die Rotfäule (Rhizoctonia violacea) und die Blattfleckenkrankheit (Cercospora beticola). Das Eigentümliche an letzterem Pilz ist, daß er jahrelang in einer Gegend nicht vorkommt, um dann ganz plötzlich hervorzutreten, und dieser Vorgang drängt zu der Annahme, daß die Sporen des Pilzes saprophytisch im Boden leben können, um bei einer durch mancherlei Umstände herbeigeführten Schwächung der Rüben sofort eine anscheinend strengere parasitäre Rolle anzunehmen. Der Gürtelschorf war stellenweise häufig aufgetreten, und Verf. sieht die Ursachen dieser Krankheit in einer durch mangelhaften Frost bedingten, unzulänglichen Gare des Ackerbodens, eventuell in einem lokalen Mangel an Bodenluft. Herz- und Trockenfäule traten gegenüber dem Vorjahre ganz erheblich zurück, ein erneuter Beweis dafür, daß Pilze, insbesondere Phoma betae, eine nebensächliche Rolle bei dieser Krankheit spielen. Stift (Wien).

**Osterwalder,** Die Sklerotienkrankheit bei den Forsythien. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1905. Heft 6.)

Verf. macht Mitteilungen über das bisher noch nicht festgestellte Vorkommen von Sclerotinia Libertiana (Fuckel) an Holzpflanzen.

An Forsythia intermedia und suspensa erkrankten im Gehölzgarten der Versuchsanstalt zu Wädensweil regelmäßig alljährlich Zweige und starben ab. Namentlich bei nasser Witterung wurden an den genannten Pflanzen viele Blumenkronen nicht nach dem Abblühen abgeworfen, sondern blieben verklebend am Kelche hängen und gerieten in Fäulnis.

In solchen faulenden Blütenresten wurde nun zunächst Botrytis cinerea festgestellt. Auch in den von dem Blütenrest aus erkrankenden Blütenstielen und Blütenzweigen wurde ein der Botrytis sehr ähnliches Mycel aufgefunden, das aber bei Reinkultur wesentliche Abweichungen zeigte. Nach einigen Schwierigkeiten gelang es, die Sklerotien, welche sich auf Nährgelatine gebildet hatten, zur Fruchtkörperbildung zu veranlassen und sie als Sclerotinia Libertiana festzustellen.

Bezüglich der Kontroverse zwischen de Bary und Frank über die Frage, ob Konidienbildung bei Sclerotinia Libertiana auftritt, hält Verf. auf Grund seiner Untersuchungen die Ansicht de Barys für die richtige. Im Zusammenhang hiermit ergaben Versuche, daß auf den absterbenden Kronenblättern Botrytis cinerea ein zufälliger Saprophyt ist und in keinem Zusammenhange mit Sclerotinia Libertiana steht.

Weiter fand die Mitteilung de Barys Bestätigung, wonach Sclerotinia Libertiana zunächst einer saprophytischen Anzucht bedarf, um infektionstüchtig zu werden, diese Eigenschaft demnach nur auf absterbendem Gewebe erreicht.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zuletzt wird ein bemerkenswerter Fall von Regeneration eines Apotheciums erwähnt. Ehrenberg (Breslau).

**Uyeda,** Bacillus nicotianae, spec. nov., die Ursache der Tabakwelkkrankheit oder Schwarzbeinigkeit in Japan. (Bull. of the Imper. centr. agric. exper. station Japan. Vol. I. 1906. No. 1. p. 39.)

Verf. liefert in der vorliegenden, durch sehr gute Abbildungen in Farbendruck nach Photographieen und Mikrophotographieen erläuterten Abhandlung eine kurze, aber eingehende Monographie des von ihm als Bacillus nicotianae bezeichneten Organismus, der, vorher schon von Kozai gezüchtet, von ihm zuerst genau beobachtet ist.

Bezüglich der Einzelheiten muß auf das Original (Deutsch!) verwiesen werden, das auch das Wesentlichste über die Symptome der Krankheit und die dadurch veranlaßten anatomischen Aenderungen der befallenen Tabakspflanzen enthält. Hier mögen nur die zusammenfassenden Schlußsätze Platz finden:

Bacillus nicotianae, der Erreger der in Japan weit verbreiteten „Tachigarehyo“ (Stengelfäule) genannten Tabakwelkkrankheit ist ein kleines Stäbchen mit gerundeten Enden, 1,0—1,2 $\mu$ lang und 0,5—0,7 $\mu$ dick. Die Stäbchen sind meist isoliert, oft aber auch zu 2—4 verbunden, peritrich begeißelt. Auf allen üblichen Nährböden ist das Wachstum gut. Gelatine wird verflüssigt. Auf Kartoffeln bildet der Bacillus eine anfangs gelblich-grüne Auflagerung, welche nach einer Woche schwarz wird. Auf festem Nährsubstrat oder in nährstoffarmen Lösungen bildet der Bacillus nicotianae nach einem Monate bereits Sporen, was praktisch für das Ueberwintern der Krankheitserreger von Wichtigkeit ist.

Im Boden ließ sich der, übrigens auch anaërob gedeihende Organismus bis in 35 cm Tiefe nachweisen; größere Tiefen sind nicht untersucht.

Das Temperaturoptimum liegt bei 32°, das absolute Maximum bei 55° C.

Von chemischen Leistungen sind zu erwähnen: Geringe Säureproduktion in zuckerhaltigen Nährböden, schnelle Reduktion von Lackmusmilch und Methylenblaubouillon, desgleichen von Nitrat zu Nitrit. Milch wird koaguliert, das Koagulum dann wieder allmählich gelöst und peptonisiert.

Säure, Indol und Schwefelwasserstoff werden in geringen Mengen gebildet; die Ausscheidungen des Welkbacillus enthalten von identifizierbaren Enzymen: Invertin, Diastase, Cytase, Tyrosinase und Trypsin.

Der Bacillus bildet reichlich einen schwarzen Farbstoff, welcher sowohl auf der Wirtspflanze als auch auf Kulturmedien zuerst als grauweiße, dann braunschwarze Färbung auftritt. Die Produktion des Farbstoffes ist in erster Linie von der Temperatur abhängig, und zwar liegt das Optimum bei 30° C, der Durchschnittstemperatur des Monats August. Versuche, den Farbstoff zu isolieren, führten zu keinem Erfolge.

Der Mikroorganismus greift nur bestimmte Varietäten von Nicotiana tabacum an. Immun sind annähernd: Ohasama, Take tadate, Mitsuke, Kentucky white, Green river prior, und völlig geschützt: Nicotiana rustica. Impfversuche auf Physalis minimum, Capsicum longum, Amarantus gangeticus und Polygonum tinc-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

torium fielen positiv, auf Solanum melongena, Lycopersicum esculenta und Physalis Alkekengi aber negativ aus.

Als Schutzmittel gegen die Tabakwelkkrankheit nennt Verf. frühes Pflanzen, Austrocknen, eventuell Brennen der infizierten Felder, Anwendung von Schwefelkohlenstoff oder Aetzkalk und vor allem Verbrennen der kranken Pflanzen.

Stickstofffreie Düngung disponiert die Pflanzen zur Welkkrankheit, Kalidüngung dagegen nicht. Vageler (Königsberg).

**Peglion, Vitt.,** Moria di piantoni di gelso cagionata da „Gibberella moricola“ (De Not.) Sacc. (Atti della R. Accademia dei Lincei. 1906. No. 1.)

Eine Anpflanzung von ungefähr 600 Maulbeerbäumen, die im vorigen Frühjahr auf einem Grundstück in Santa Maria Maddalena (Rovigo) angelegt worden war, ging infolge eines eigentümlichen Austrocknens des Stammes zu Grunde. Nachdem die Pflanzen unter Beobachtung der nötigen Vorsichtsmaßregeln eingepflanzt worden waren, trockneten sie, nachdem sie kaum angefangen hatten zu knospen, auch schon ein. Es handelte sich, wie gewöhnlich, um junge, ca. 4-jährige Pflanzen, bei denen vollständig auszuschließen war, daß das Absterben einer Fäulnis der Wurzeln zugeschrieben werden könne oder aber einem beim Einpflanzungsakt obwaltenden Kenntnismangel.

Bei allen untersuchten Pflanzen waren die Gegend des Collectum und der Stamm verschieden weit mit zahlreichen schwarzen Warzen bedeckt, welche nach dem mikroskopischen Befunde die charakteristischen stromatischen Perithecien der Gibberella moricola enthielten, und von ziegelsteinroten Acervuletten des Fusarium lateritium. In einigen Exemplaren vereinigten sich da die unreifen Perithecien einer Nectria.

Die genetische, zwischen Gibberella moricola und Fusarium lateritium bestehende Beziehung ist durch die experimentellen Untersuchungen Briosis und Farnetis klargelegt worden. Eben diesen Verfassern gebührt das Verdienst, nachgewiesen zu haben, daß das sogenannte Hinsiechen der Knospen des Maulbeerbaums durch die parasitäre Einwirkung des Fusarium lateritium Nees. bedingt wird, sowie daß die Gibberella moricola die im Herbst auftretende Form sei, von der die Infektion der im Sommer sich bildenden Knospen bewirkt werde.

Bevor genannte Forscher den parasitären Ursprung der Krankheit nachgewiesen hatten, war man allgemein der Ansicht, daß sie ihr Entstehen meteorischen Erregern verdanke (Nebel, Frost, Temperatursprünge), denen nunmehr nur eine indirekte Einwirkung zugeschrieben werden kann. Denn es bleibt immerhin wahrscheinlich, daß diese Erreger, genau wie das Entblättern des Maulbeerbaums, die Pflanze zur Infektion veranlagen, um so mehr, als die der Entblätterung folgenden Verletzungen offenstehenden Toren gleichkommen, durch die die keimenden Konidien einzudringen vermögen. Verf. glaubt, daß in dem von ihm beobachteten Falle die prädisponierende Ursache durch die meteorologischen Verhältnisse des vergangenen Frühlings gegeben worden sei. Die rauhe Märztemperatur, die Zeit, in der die Einpflanzung stattfand, der starke Reif der Nacht vom 6. auf den 7. April können nach Verf. die Pflanzen ganz wohl zur Infektionsempfängnis veranlagt haben.

Die Tatsachen müßten also vor allem die Handels- und Kunstgärtner

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ganz besonders berücksichtigen. Es wäre demnach ratsam, vor dem Ausgraben der zum Reise bestimmten Pflanzen diese vor Verpflanzung an den gewünschten Ort nicht nur die gewöhnte Beschneidung vorzunehmen, sondern dieselbe dadurch zu vervollständigen, daß alle verletzten Teile abgetragen und dann Stamm und Wurzeln durch Pinselungen mit Kupfersulfatlösung von 1 Proz. desinfiziert werden, was viel wirksamer ist, als gewisse empirische Behandlungen (Einkalken, Anstreichen mit Bleiweiß oder Kot), die bei einigen Züchtern zur Verwendung kommen.

Bertarelli (Turin).

**Istvánffi, Gy. de,** Études microbiologiques et mycologiques sur le rot gris de la vigne (Botrytis cinerea — Sclerotinia Fuckeliana). (Annales de l'Institut Central Ampélologique Royal Hongrois. T. III. 1905. p. 183.)

Eine von der französischen Akademie der Wissenschaften preisgekrönte, umfangreiche und verdienstvolle, wenn auch etwas breite Abhandlung von 178 Seiten mit 15 Textabbildungen und 8 Tafeln mit 211 Figuren.

Der 1. Teil, mikrobiologische Untersuchungen, zerfällt in 10, der 2. Teil, über die Entwickelung der Botrytis cinerea, in 5 Kapitel.

Das 1. Kapitel enthält vorläufige Untersuchungen über die Keimung. Zum Vergleich werden Monilia und Coniothyrium Diplodiella herangezogen. Für Botrytis und Monilia liegt das Optimum der Keimung bei 25° C, für Coniothyrium Diplodiella zwischen 25 und 30° C. Eine Temperatur von 5—12° C ist für die Keimung unvorteilhaft, eine solche von 38—41° C verhindert die Keimung der drei genannten Krankheitserreger. Von den Botrytis-Sporen keimen in Most 99 Proz. und in Wasser 90 Proz. in 24 Stunden bei 25° C. In Wasser hört die Weiterentwickelung auf, in Most entwickeln sich die Sporen bis zur Fruktifikation. Ein Kupfergehalt der Flüssigkeit von 0,1 bis 0,3 Proz. hindert die Entwickelung der Botrytis-Sporen nicht gänzlich. — Auf die Praxis übertragen ergibt sich: In süßem Fruchtsaft keimen die Sporen der genannten drei Pilze sehr schnell (in 6—8 Stunden bei 25° C), entwickeln sich kräftig und können sogar fruktifizieren. In Bezug auf etwa vorhandene Verletzungen ist daher eine sorgfältige Ueberwachung der Trauben notwendig. Eine mit der zehnfachen Menge Beerensaft verdünnte Bordeauxbrühe hindert die Keimung der Sporen keineswegs; für die Praxis ist dies sehr wichtig. Wenn den Beeren gar keine oder nur sehr wenig Brühe anhaftet, wird die Graufäule bei feuchtem Wetter deshalb so gefährlich, weil die Brühe teilweise abgewaschen wird und der noch haftengebliebene Rest beim Austreten des Beerensaftes noch mehr verdünnt wird. Da die Keimung und Entwickelung der Botrytis in dem süßen Beerensaft sehr schnell vor sich geht, so können die verletzten Trauben zu einem wahren Herd der Graufäule werden. Da nun die meisten Verletzungen durch Hagel hervorgebracht werden, so kann nicht genug angeraten werden, daß sofort nach einem Hagel geeignete Maßnahmen ergriffen werden. Es muß eine Substanz angewendet werden, die sich mit dem austretenden Beerensaft mischt und ihn für die Entwickelung der Botrytis ungeeignet macht. Ein besserer Erfolg als mittels der Bordeauxbrühe, die auf den Beeren schlecht haftet, läßt sich nun durch Verwendung von Natriumbisulfit erzielen, durch das die Wunden gewissermaßen desinfiziert werden.

Das 2. Kapitel handelt von dem Einfluß des Eintrocknens und des

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

künstlichen Austrocknens auf die Lebenskraft der Botrytis-Sporen. Von getrockneten und einen Tag in einem trockenen Medium aufbewahrten Sporen bleibt die Keimung nach Aussaat in Wasser bei 75 Proz., bei Aussaat in Most bei 60 Proz. aus. Nach 2- bis 3- oder 4-tägiger Aufbewahrung unterbleibt die Keimung nach Aussaat in Wasser bei 85 Proz., bei Aussaat in Most bei 70—80 Proz.; nach 8—12-tägiger Aufbewahrung in einem trockenen Medium unterbleibt die Keimung bei 90 Proz. Nach 25-tägiger Aufbewahrung keimen noch 1—2 Proz., nach 36-tägiger gar keine Sporen. Das künstliche Austrocknen ist für die Sporen außerordentlich schädlich. Nach einem 1-tägigen Austrocknen der Sporen keimen in Wasser 80 Proz. nicht mehr, in Most 70 Proz. nicht mehr. Nach 2—8-tägigem Austrocknen unterbleibt die Keimung in Wasser bei 95—98 Proz. Nach einem 15-tägigen Austrocknen keimt nur noch 1 Proz. der Sporen; nach 20-tägigem Austrocknen sind alle Sporen tot. Der zerstörende Einfluß des Austrocknens wirkt auch in der Nacht, im Dunklen. — Auf die Praxis übertragen, ergibt sich, daß, wenn auf feuchte Tage einige trockene Tage folgen, man darauf rechnen kann, daß von den getrockneten reifen Sporen nur 25 Proz. in Wasser und 40 Proz. in süßem Beerensaft keimen, daß also 75 bezw. 60 Proz. als unschädlich betrachtet werden können. Da ein Teil der Sporen nach einer trockenen Periode in dem Beerensaft, z. B. in dem Saft von verletzten Weinbeeren, noch keimen kann, so darf man eine Behandlung nicht vernachlässigen, weil sich die Krankheit durch die in den Beerensaft gelangenden Sporen erneuern kann. Die Bekämpfung der Botrytis sowie anderer Krankheiten, die durch Kryptogamen mit widerstandsfähigen Sporen hervorgerufen werden, ist am erfolgreichsten, wenn auf die Behandlung einige trockene Tage folgen, weil die Sporen durch das Austrocknen leiden und sich dann leichter vernichten lassen. Da in der Natur oft eine abwechselnde und schnelle Befeuchtung und Austrocknung der auf den Pflanzen, dem Erdboden u. s. w. ausgestreuten Sporen eintritt, so kommt eine Infektion nicht so oft vor, wie man nach der ungeheueren Zahl der erzeugten Sporen erwarten könnte. Findet dagegen der Uebergang zwischen trockenen und feuchten Perioden allmählich statt, dann bleiben viel mehr Sporen am Leben und die Verbreitung der Krankheit wird erleichtert. Eine feuchte Periode ist nicht nur für die Erhaltung der Sporen von Vorteil, sondern sie begünstigt auch die Entwickelung der ausgekeimten Sporen und die Infektion.

Das 3. Kapitel handelt von der Lebensfähigkeit der ausgekeimten Sporen. Die auf dem Objektträger in Wasser ausgekeimten und dann in Wasser aufbewahrten Sporen behalten 13 Tage ihre Lebenskraft. In Most ausgekeimte und in Wasser aufbewahrte Sporen bleiben 19 Tage lebendig. In gewissen Medien ausgekeimte Sporen vertragen ein Austrocknen nicht. Bei Verwendung gewisser Mittel, selbst bei starker Verdünnung (z. B. 0,2 Proz. Kalkbisulfit), werden die ausgekeimten Sporen zerstört. Aus den gewonnenen Ergebnissen läßt sich folgern, daß die auf den beschädigten Beeren gekeimten Sporen sehr lebensfähig sind und leicht eine Infektion verursachen können. Wenn auch die ausgekeimten Sporen ein Austrocknen nicht vertragen, kann doch ein Teil der Sporen an geschützten Stellen der Pflanzen eine trockene Periode überdauern. Eine Bekämpfung darf daher auch bei trockener Witterung nicht unterlassen werden, um so weniger deshalb, weil die ausgekeimten Sporen schon durch stark verdünnte Mittel vernichtet werden können.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das 4. Kapitel handelt von der Wirkung der Kälte. Nach einer 6-tägigen trockenen Abkühlung auf —15 bis —5° C oder einer solchen in Wasser und nachfolgendem plötzlichen Auftauen haben 15—20 Proz. der Sporen ihre Keimfähigkeit eingebüßt. Nach Einwirkung einer während 16 Tagen zwischen +5° und —7° C schwankenden Temperatur betrug der Verlust 10 Proz. Hohe Kältegrade (—28 bis 22°), auf die ein langsames Auftauen folgt, tötet in 6 Tagen 30 Proz. der Botrytis- und 70 Proz. der Monilia-Sporen. Nach einem trockenen und langen Winter, in dem große Kälte mit Temperaturen über 0° wechselten, kann man daher viel mehr auf das Auftreten der Botrytis als der Monilia rechnen.

Das 5. Kapitel handelt von der Wirkung der Bordeauxbrühe auf die Sporen. Ein eintägiges vollständiges Eintrocknen bei +20° C hat dieselbe Wirkung auf die Keimkraft der Botrytis-Sporen wie eine 24-stündige Aufbewahrung derselben in einer 1- bis 3-proz. Bordeauxbrühe. Das Eintrocknen der Sporen in der Bordeauxbrühe tötet etwas mehr Sporen als eine 24-stündige Aufbewahrung der Sporen in Bordeauxbrühe. Die eingetrockneten Sporen sterben nach 24stündiger Aufbewahrung in Bordeauxbrühe ab. Als für die Praxis wichtig ergibt sich aus den vom Verf. erhaltenen Ergebnissen, daß die Wirkung einer 1- bis 3-proz. und selbst einer 4- bis 6-proz. Bordeauxbrühe auf die Botrytis-Sporen keine sehr erheblichen Unterschiede aufweist, ein Umstand, der für eine ökonomische Bekämpfung sehr wichtig ist. Die Wirkung der Brühe wird viel größer, wenn die Brühe langsam (in wenigstens 6 Stunden) trocknet, weil dann durch eine 1- bis 3-proz. Bordeauxbrühe 77 Proz. der Botrytis-Sporen getötet werden. Der Erfolg ist noch größer, wenn die Tropfen der Bordeauxbrühe mit den Sporen (in 24 Stunden) eintrocknen und dann mit Wasser verdünnt werden, weil dann 90 Proz. der Sporen zu Grunde gehen. Am größten ist der Erfolg aber, wenn Sporen, die vorher eingetrocknet waren, für 24 Stunden in Bordeauxbrühe gelangen, da dann alle Sporen absterben. In der Praxis wird am häufigsten der Fall eintreten, daß die Bordeauxbrühe langsam eintrocknet und damit also nur 77 Proz. der Botrytis-Sporen abgetötet werden. Ein völliges Eintrocknen der Sporen kommt deshalb nicht so leicht vor, weil von den Beeren und Blättern Wasserdampf abgegeben wird und die Sporen die Feuchtigkeit bis zu einem gewissen Grade zu absorbieren vermögen.

Das 6. Kapitel handelt von der Entwickelung in der Bordeauxbrühe. Als wichtigste Folgerung ist zu nennen, daß ein Teil der Sporen der Botrytis und des Coniothyrium Diplodiella in einer 3-proz. Bordeauxbrühe auszukeimen, saprophytisch in die Pflanze einzudringen und in ihr ihre Entwickelung fortzusetzen vermag.

Das 7. Kapitel enthält Untersuchungen über gepulverte Bordeauxbrühe. Die zerstörende Wirkung einer durch Tau und Regen aufgelösten Brühe nimmt fortwährend ab und verliert sich nach 8 Tagen. Durch Regen, der 8 Tage nach der Behandlung der Pflanzen mit Bordeauxbrühe fällt, werden daher die jetzt vorhandenen Botrytis-Sporen nicht getötet, sondern sie vermögen sich auf den beschädigten Beeren und in dem Saft derselben zu entwickeln. Die Cazeneuvesche Brühe tötet die Botrytis-Sporen keineswegs; es können sogar 50 Proz. der Sporen in einer Lösung keimen, die aus einer seit 3 Tagen eingetrockneten Brühe erhalten worden ist. — Die giftige Wirkung einer Brühe, die durch Lösung einer rasch eingetrockneten Bordeauxbrühe

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hergestellt wurde, ist noch ziemlich erheblich. Die physiologische Wirkung der Brühe ist ihrer Konzentration nicht proportional, denn mit einer 6-proz. Brühe werden ungefähr dieselben Erfolge erzielt wie mit einer 3-proz. Brühe. Die Resultate der angestellten Versuche können indes mit den Wirkungen, die durch eine durch Tau gelöste Brühe hervorgebracht werden, nicht ganz identifiziert werden.

Das 8. Kapitel handelt von der Wirkung der Bestandteile der Bordeauxbrühe. In einer 3-proz. filtrierten Bordeauxbrühe kann das Auskeimen von reifen Botrytis-Sporen ein ziemlich reichliches sein. Die Kupfer- und Kalkverbindungen, die sich in Form von runden und zackigen Partikeln niederschlagen, verhindern die Keimung nicht, selbst wenn sie sich auf den Sporen absetzen. Bei Versuchen im hängenden Tropfen gelangten binnen 6 Tagen immer neue Sporen zur Keimung, am 6. Tage war der größte Teil der Sporen ausgekeimt.

Das 9. Kapitel handelt von neuen Bekämpfungsmitteln gegen die Botrytis und das Coniothyrium. Die Resultate sind in Tabellen zusammengestellt.

Das 10. Kapitel handelt von der Entwickelung der Botrytis-Sporen in Glycerin und in organischen Säuren. Die Botrytis-Sporen entwickeln sich gut in 1—10-proz. organischen Säuren (Apfel-, Wein-, Citronensäure) und in 1—5-proz. Aethylalkohol. Für die Entwickelung in Säuren ist die Bildung eines außerordentlich langen Keimschlauches, für die Entwickelung in Alkohol ein kurzer, keulenförmiger Keimschlauch charakteristisch. Es macht sich hierbei eine Teilung der Sporen und eine Neigung zur Bildung von Sekundärsporen bemerkbar. Als eine neue Erscheinung betrachtet Istvánffi eine chlamydosporenartige Verdickung an den Zweigen, die die Haftorgane bilden, sowie auch die Bildung von Konidien an besonderen Sterigmen. In einer 1—10-proz. Glycerinlösung entwickeln sich die Botrytis-Sporen gut und erzeugen auf isolierten Sterigmen sehr kleine Konidien (von $2^1/_2$—3 $\mu$ Durchmesser) oder gruppenartige Konidienbildungen. An älteren Kulturen in eintrocknenden Medien lassen sich verschiedene Formen von Entartung beobachten. Am auffälligsten sind lange Fäden, die ohne Sterigmen Mikrokonidien erzeugen, sowie Fäden, die das Promycel der Ustilagineen nachahmen. Eine derartige Entstehung von Mikrokonidien war für die Botrytis bisher unbekannt. Zum Auskeimen konnten diese Konidien nicht gebracht werden.

Das 11. Kapitel, mit dem der zweite Teil der Arbeit beginnt, enthält allgemeine Bemerkungen über die Sklerotien der Botrytis, das 12. Kapitel handelt von der Entwickelung der Botrytis auf den verschiedenen Teilen des Weinstocks, das 13. Kapitel von der Entwickelung der Botrytis in Reinkulturen. In den Entwickelungscyklus der Sclerotinia Fuckeliana gehören: 1) als Botrytis (Polyactis) cinerea Mikrokonidien (4 Typen), Konidiensporen (oder besser Makrokonidien), Megalokonidien, Sklerotien, Pseudosklerotien (2 Typen), Haftorgane (4 Typen), Ueberwinterungshyphen, scheibentragende Hyphen und perennierende Knöllchen (?); 2) als „Peziza Fuckeliana“ Apothecien, Askosporen und Makrokonidien, durch die der Pilz mit der Botrytis-Generation in Zusammenhang steht.

Das 14. Kapitel enthält eine Rekapitulation der praktischen Ergebnisse und betrifft die Bekämpfungsweise. Im folgenden soll nur das angeführt werden, was sich auf die Bekämpfung der Krankheit bezieht. Alle abgeschnittenen grünen Teile der Weinstöcke müssen gewissenhaft beseitigt werden, damit sich der Pilz nicht auf ihnen ansiedeln kann.

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Es muß dafür gesorgt werden, daß die Triebe luftig genug, also nicht zu gedrückt stehen. Die durch Botrytis beziehungsweise Sklerotien verunreinigten Beete müssen gründlich desinfiziert werden. Der Sand muß sorgfältig herausgenommen werden und die Seitenwände der Kästen müssen mehrere Male mit einer 5-proz. Kalkbisulfitlösung angestrichen werden. Der frische Sand muß in dünner Schicht ausgebreitet und ebenfalls mit der Kalkbisulfitlösung begossen und dann an der Sonne getrocknet werden. In dem Sand dürfen keine Pflanzenabfälle und andere organische Körper enthalten sein, weil diese der Entwickelung des Botrytis förderlich sein würden. Der Sand aus den Treibkästen sollte nicht wieder verwendet werden, da sich die kleinen Sklerotien und Botrytis-Sporen auch bei sorgfältigster Reinigung nicht völlig beseitigen lassen. Man müßte den Sand glühen, was ein sehr umständliches Verfahren sein würde. Es ist nötig, daß die neuen Beete weit genug entfernt von den verseuchten Beeten angelegt werden, und es muß dafür gesorgt werden, daß die Beete nicht zu feucht und daß sie gut durchlüftet sind. Im Frühling und Anfang Sommer müssen in den Weinbergen alle abgefallenen Blätter und Triebe gesammelt und verbrannt werden. Die Bekämpfung, die Istvánffi auf Grund seiner Untersuchungen empfiehlt, ist folgende. Zunächst müssen die Reben im Herbst, bevor sie eingewintert werden, oder im Frühling, nachdem sie freigelegt worden sind, mit einer 5-proz. Kalkbisulfitlösung angestrichen werden. Die Zahl der vorhandenen Sporen wird dadurch verringert. Die vorbeugenden Maßnahmen betreffen gewissenhafte Reinigung des Weinbergs, Beseitigung von Unkraut und von vertrockneten Blättern, Trieben und Trauben. Auch beim Sommerschnitt ist Vorsicht anzuraten. Die Botrytis findet günstige Verhältnisse für ihre Entwickelung in dem sehr gedrückten Laub, besonders bei feuchter Witterung. In feuchten Lagen müssen daher Maßnahmen ergriffen werden, durch die eine Verminderung der Feuchtigkeit erzielt wird (Drainage). Mit besonderer Vorsicht muß bei der Anzucht der Reben zu Werke gegangen werden. Es darf nur reiner Sand verwendet werden und während der Aufbewahrung der Pfropfreiser u. dergl. darf nicht mehr Feuchtigkeit vorhanden sein als nötig ist. Die Bunde der Veredelungsunterlagen müssen, besonders wenn das Uebel bereits konstatiert wurde, leicht mit einer Mischung von $1/2$ kg Natriumbisulfit und 9 kg gepulverter Holzkohle bestreut werden. Wenn die Kästen für die Veredelungen (nach der Richterschen Methode) gefüllt werden, kann man dieselbe Mischung unter Zufügung von 3 kg Schwefelblumen anwenden. Auch das Moos muß, wenn es nicht sauber genug ist, mit einer 3-proz. Kalkbisulfitlösung begossen und dann in der Sonne getrocknet werden. Es empfiehlt sich auch, die Kästen vor dem Gebrauch zu reinigen und die Böden derselben mit einer 3-proz. Kalkbisulfitlösung anzustreichen. Ferner müssen die jungen Veredelungen, bevor sie in die Rebschule gesetzt werden, gewissenhaft auf ein Vorhandensein von Sklerotien durchmustert werden. Mit Sklerotien besetzte Exemplare müssen verbrannt werden. Da die Sklerotien manchmal erst in der Rebschule hervorkommen, ist auch hier eine sorgfältige Ueberwachung der Veredelungen nötig. Abgestorbene Pflanzen müssen sofort beseitigt werden, da sie leicht vermodern und zu einem Herd für die Ansteckung werden können. Auf dem gesunden grünen Laub kommt die Botrytis selten vor, sie siedelt sich hauptsächlich auf welken Blättern an. Alle welken und abgeschnittenen Teile der Weinstöcke müssen deshalb beseitigt werden. In die Beeren dringt der Pilz an

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihrer Basis ein. Die sauren, unreifen Beeren werden nicht angegriffen. Zur Bekämpfung der Botrytis kann eine abwechselnde Verwendung von 1-proz. Bordeauxbrühe und Bestäuben mit Natriumbisulfit (10 kg Natriumbisulfit vermischt mit 90 kg Ton [argile]) empfohlen werden. Die Hauptsache ist, daß die Trauben während der ganzen kritischen Zeit von der Substanz der betreffenden Mittel bedeckt sind. Es ist also nötig, die Behandlung zu wiederholen, wenn die Medikamente durch den Regen abgewaschen worden sind. Da es schwer ist, den Zeitpunkt einer Infektionsmöglichkeit vorauszusagen, muß eine vorbeugende Behandlung zur Anwendung kommen. Groß ist die Gefahr besonders bei feuchtem Wetter. Die Bekämpfung ist am wirksamsten bei trockenem Wetter, weil durch die Trockenheit allein schon 60 Proz. der Sporen getötet werden. Nach einem Hagel müssen sofort alle Trauben mit einer 10-proz. Natriumbisulfitmischung bestäubt werden, um die Sporen, die sehr leicht auf den Wunden in dem austretenden Saft keimen, zu zerstören. Wenn die Botrytis die Beeren bereits infiziert hat und aus ihnen hervorbrechen will, ist ihre Anwesenheit leicht zu erkennen, da die vorher glatte Haut der Beeren viele kleine Pusteln erhält und sich entfärbt. Die Botrytis bildet auf den Weinbeeren kleine, von grauem Staub bedeckte Büschel. Anfangs läßt sich bei trockenem Wetter die Ausbreitung des Pilzes durch Einsammeln der kranken Beeren und Trauben hemmen. Bei Tafeltrauben empfiehlt es sich, die zu dicht stehenden Beeren herauszuschneiden. Die Bekämpfungsmittel können dann besser zwischen den Beeren in die Traube eindringen. Die lockeren Trauben leiden im allgemeinen nicht so stark wie die dichteren Trauben. Diejenigen Medikamente, die ein Gas absondern, bieten mehr Sicherheit als die flüssigen Mittel, die leicht von der Oberfläche ablaufen und nur an den Berührungspunkten eine Wirkung ausüben. Die Sporen der Botrytis werden durch den Wind leicht verweht („Der Wein raucht"). Die Bekämpfung wird dadurch zwar erschwert, doch läßt sich die Krankheit durch tüchtiges Bestäuben hemmen. Schließlich ist es zweckmäßig, die Trauben der am stärksten befallenen Parzellen zu ernten, bevor die Beeren abfallen, um die Krankheit möglichst aus den Weinbergen zu beseitigen. Der Most der kranken Parzellen, besonders derjenige von schwarzen Trauben, muß für sich gekeltert werden.

Im Schlußkapitel sind die Ergebnisse des zweiten Teiles der Arbeit zusammengefaßt.

A. Die Entwickelung der Botrytis auf den verschiedenen Teilen des Weinstockes.

Das Mycel breitet sich in Form von sehr feinen Hyphen in den Beeren aus. Die Hyphen werden später stärker und gedrängter und befallen das Hypodrem. Unter der Cuticula bilden sie ein mehr oder weniger dichtes und oft gallertartiges Hyphenlager. Die Membranen der Hyphen neigen sehr zur Gallertbildung. In den kurzen Zellen finden sich 3—4, in den langen Zellen viele Kerne. Wenn eine Sklerotisierung eingetreten ist, findet sich unter der Cuticula ein Hyphenlager von verschiedener Stärke, das an einigen Stellen Auswüchse hat. Es sind dies die Anfänge von neuen Sklerotienbildungen.

Sklerotische Hyphen. Die Hyphen, die unter der Cuticula liegen, sklerotisieren und können wahrscheinlich zur Ueberwinterung dienen.

Entwickelungstypen der Sklerotien. Istvánffi unterscheidet 4 Typen. Die Sklerotien können hervorgehen 1) aus einzelnen Knäueln, 2) aus einem Gewebe von gleichmäßig verfilzten Hyphen, 3) aus einem ver-

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

filztten Hyphengewebe mit einer Lage von Knäueln in der Mitte, 4) aus einem Hyphengewebe mit zahlreichen Knäueln.

Die Struktur der reifen Sklerotien ist entweder faserig oder knorpelig. Die aus einem filzigen Gewebe hervorgehenden Sklerotien haben eine weniger dichte Struktur; die aus Hyphenknäueln hervorgegangen Sklerotien sind dagegen fester und dichter. Die auf den Beeren entstandenen, mit einer braunen Rinde versehenen, großen, fast reifen Sklerotien zeigen an mikroskopischen Querschnitten folgenden Bau: a) unterhalb der Rindenschicht kann man den die Rinde bildenden Teil und den Markteil unterscheiden, b) bei einer aus mehreren Schichten gebildeten Rinde ist eine äußere Rinde, eine innere Rinde und das Mark vorhanden. Die zuerst genannte Struktur kann sich aus dem 4. Typus (Hyphengewebe mit zahlreichen Knäueln) entwickeln, während die zuletzt angeführte Struktur wahrscheinlich aus dem 3. Typus (verfilztes Hyphengewebe mit einer Lage von Knäueln in der Mitte) hervorgeht. Bei der Reife verwischen sich diese Unterschiede oft.

Die Bildung der Rindenschicht beginnt, wenn die Cuticula bereits abgefallen ist. Die außen liegenden Hyphenenden verdicken sich keulenförmig und verflechten und ihre Membran verdickt sich und bräunt sich. Von der Fläche gesehen scheint die Rinde aus 4—5-eckigen Zellen gebildet zu sein. Die Stärke der aus mehreren Schichten gebildeten Rinde beträgt durchschnittlich 30 $\mu$. Sie entsteht auch an der in das Substrat eingesenkten Seite des Sklerotiums. Bei der Keimung wird die Rinde durch die sich entwickelnden Apothecien oder Konidienträger einfach gesprengt. Außer den echten Sklerotien hat der Verf. noch andere sklerotische Körper gefunden, die er als kleine kegelförmige Sklerotien oder als Pseudosklerotien (1. Typus) beschreibt. Sie entstehen aus je einem einzigen von Hyphen eingehüllten Knäuel. Später wachsen ihre verdickten Hyphen direkt zu Konidienträgern aus oder sie erzeugen ein braunes helles Rindenlager, das von den sich entwickelnden Konidienträgern durchbrochen wird. Ihre Ruhezeit ist kurz.

Die Keimung der Sklerotien mit Konidienträgern geschieht auf zweierlei Weise:

a) direkte Keimung, ohne Stroma. Der Konidienträger entwickelt sich aus den Zweigen der Zellen des halbreifen Sklerotiums. Die Keimung beginnt schon im September und dauert bis Ende Oktober.

b) Keimung aus einem Stroma. Eine solche ist in den Weinbergen gegen Ende Mai zu beobachten.

Kleine Knäuel in den Sklerotien sind bisher nicht beobachtete Bildungen, die aus einer reichlichen Verzweigung der Hyphen hervorgehen. Sie können als Ausgangspunkte für eine neue Hyphenentwickelung betrachtet werden.

Keimung der Sklerotien mittels Apothecien. Bei der Keimung berstet die Rinde und der Vegetationskegel kommt hervor. Er verlängert sich und differenziert sich. Auf seinem Scheitel entwickelt sich sehr bald die Hymenialschicht. Der unter dieser liegende Teil besteht aus einem etwas lockeren Gewebe. Das Hymenium enthält anfangs nur sterile Paraphysen. Die Schläuche drängen sich später zwischen die Paraphysen und die Scheibe öffnet sich. Das Reifwerden des Hymeniums geht hiermit parallel. Die jungen Schläuche haben nur einen Kern. Später teilt sich derselbe. Das Reifen der Sporen erfolgt in basipetaler Reihenfolge. Die Sporen enthalten 1, 2 oder 3 Kerne. Die plastischen Stoffe des Sklerotiums werden gänzlich zur Bildung des

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Apotheciums aufgebraucht. Die Keimfähigkeit der Sklerotien verringert sich allmählich während einer $1^3/_4$ Jahre langen Aufbewahrung. Nach dieser Zeit werden nur sterile Apothecien erzeugt. Die Bildung der Apothecien ist an keine bestimmte Stelle des Sklerotiums gebunden. In einem Nährmedium treiben die Apothecien ein Mycel. Durch reichliche und dauernde Feuchtigkeit wird die Keimung der Sklerotien mit Konidienträgern begünstigt.

Die Haftorgane. Diese Organe entwickeln sich gewöhnlich aus den Konidienträgern und dienen zum Uebergang des Pilzes auf die benachbarten Weinbeeren. Sie entstehen ebenfalls unter der Cuticula und zersprengen dieselbe. Die unterdrückten Haftorgane bilden manchmal runde pseudoparenchymatische Körper (Mycelknöllchen?).

Eindringen der Konidien. Verf. hat ein direktes Eindringen der Botrytis-Konidien in schwächere und stärkere lebende Membranen ohne vorherige Bildung von besonderen Haftorganen beobachtet. Die Entstehung der Konidienträger geschieht a) in Gruppen oder b) einzeln. Die in Gruppen stehenden Konidienträger entwickeln sich aus dem unter der Cuticula liegenden Mycel oder sie gehen aus einem stromatischen Lager hervor. Die einzeln stehenden Konidienträger entwickeln sich aus den Hyphen des hypodermalen Mycels. An ihrer Basis finden sich strahlig gebaute Zuckersphärite.

Hohle und gelappte Sklerotien. Die auf den Beeren sitzenden Sklerotien entwickeln sich oft unregelmäßig und werden hohl und gelappt. Große Sklerotien entstehen durch Verschmelzung von mehreren benachbarten Gruppen. Sehr selten entwickeln sich Sklerotien an der Ansatzstelle der Beere.

Einschlüsse. Die eingesenkten Sklerotien schließen viele Gewebeelemente der Pflanze ein. Manchmal ist das Sklerotium voller Stärkekörner, die aus der primären Rinde stammen.

Pilze auf den Sklerotien. Im März beobachtete Istvánffi auf Slekrotien, die vom vorhergegangenen Herbst stammten, kleine Bündel von Konidienträgern, die er als Acremonium vitis ansprach. Eine ähnliche, aber kleinere Form wurde auf künstlichen Kulturen beobachtet.

B. Entwickelung der Botrytis in Reinkulturen.

Thallus. In Most gezüchtet entwickelt die Botrytis einen kräftigen Thallus mit 6 Schichten, von denen die unterste gallertartig ist, die folgende rötlich, die dritte enthält viel Luft und zusammengefallene Konidienträger. Die aus der dritten Schicht hervorwachsenden Hyphen stehen mit der vierten Schicht in Zusammenhang, die fünfte Schicht trägt die Haftorgane. Die sechste Schicht wird aus einem schwächlichen Mycel gebildet. An den Keimschläuchen der Botrytis-Sporen (die Keimung kann an 2—3 Stellen beginnen) können als Folge eines Berührungsreizes Formveränderungen auftreten, die sich in der ersten Zeit der Entwickelung zum Teil wieder ausgleichen können. Infolge eines dauernden Berührungsreizes bilden sich Haftorgane von verschiedenem Typus (fächerförmig, gelappt, baumförmig, geweihförmig), aus denen Bündel hervorgehen, von denen die stärksten zu voluminösen zusammengesetzten Körpern werden.

Von diesen größeren Haftorganen gibt es 2 Arten: a) scheibentragende Haftorgane. Sie werden allmählich braun und bilden hohle Körper (Pseudosklerotien, 2. Typus) und sterben ab. b) scheibenlose Haftorgane. Sie entwickeln sich folgendermaßen: Die Primäräste erzeugen dadurch, daß sie sich wiederholt verzweigen, stumpfe Büschel von grün-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelber Farbe. Nach einer gewissen Zeit hören die Hauptäste auf zu wachsen und bilden eine fest verklebte Zone (1. Schicht), die durch ihre dunkle Farbe ausgezeichnet ist. Darauf treibt jeder der Hauptäste eine Hyphe, die sich gabelt und deren Seitenzweige miteinander verschmelzen. Auf diese Weise entsteht eine hellere und höher gelegene Zone. Dann vereinigen sich die Enden der Hyphen und bilden von neuem eine dichtere und dunklere Zone. Der Wechsel von dichten und lockeren Zonen kann sich mehrere Male wiederholen: es können 15 bis 20 Zonen aufeinanderfolgen. Die dunkelste Zone enspricht jedesmal einer Zone, in der das Wachstum zeitweilig stillgestanden hat, während die hellste Zone der Region entspricht, wo die Hyphenäste wieder anfangen zu treiben. Infolge des einseitigen Wachstums der Lager, wobei zuweilen neue Verzweigungszentren eingeschaltet werden, entstehen Körper von halbkugeliger, fächerförmiger, kegelförmiger oder sogar verzweigter Gestalt, ähnlich dem Typus von Conium, Pavonia, Halimeda oder eines phyllocladientragenden Cactus. Im hängenden Tropfen entstehen kleine Quasten mit gekrümmtem Basalteil.

Entwickelung der Sklerotien. Die Sklerotien entstehen aus großen Haftorganen, die aus mehreren Quasten zusammengesetzt sind und keine Scheiben haben. Bemerkenswert ist, daß die großen Haftorgane nicht unmittelbar am Glas haften, sondern daß sie durch eine Hyphenschicht getrennt sind. An der Unterseite entwickelt sich ein niedriges Knäuel, das der Anfang des Sklerotiums ist. Die Hyphen des Knäuels vereinigen sich alsbald zu einer braunen Rindenschicht. Die Basis des Haftorgans kann tief in das in der Entwickelung begriffene junge Sklerotium hereinragen und ein Füllgewebe in dem Hohlraum des jungen Sklerotiums entwickeln. Indes trägt auch das Sklerotium zur Ausfüllung des Hohlraumes bei, indem es keulenförmig verdickte und sich verzweigende Hyphen in dasselbe hineintreibt. Wenn das junge Sklerotium bereits mit einer braunen Rinde versehen ist, trennt es sich von der es ernährenden Quaste. Dabei bräunen sich die Hyphen und bilden tangentiale Querwände. Es wird eine besondere Rindenschicht eingeschaltet und das Sklerotium wird an seinem Nabel von seinem Nährgewebe getrennt.

Der Vorgang des Reifens des Sklerotiums erfordert längere Zeit, mehrere Monate, während derer die Hyphen fest werden, sich verzweigen und ein dichtes homogenes Gewebe bilden.

Istvánffi betrachtet, im Gegensatz zu den bisherigen Anschauungen darüber, die großen, ohne Scheibe versehenen Haftorgane, die aus mehreren Quasten zusammengesetzt sind, speziell als die Organe, die die Sklerotien erzeugen. Die keulenförmigen Haftorgane die sich auf den Beeren finden und diese miteinander verbinden, sind umgewandelte Konidienträger.

Die Keimung. Die binnen 3 Monaten entstandenen Sklerotien sind noch nicht vollständig reif. Wenn sie in feuchten Sand ausgelegt werden, keimen sie nach 4 Wochen mit Konidienträgern. An in Wasser liegenden mikroskopischen Präparaten, denen 50-proz. Glycerin zugesetzt worden war, bemerkte Istvánffi an den Heftorganen nach 3 Tagen eine Entwickelung von neuen außerordentlich dünnen Hyphen (4—5 $\mu$ dick), die eine Länge von $7^1/_2$ $\mu$ erreichten und nach dem Rande des Deckglases hin wuchsen. An den größeren Haftorganen zeigte sich sogar eine Gabelung der Hyphenäste. Die Basis der Konidienträger wie auch die Hyphen derselben zeigen oft einen gewissen Grad von Gallertbildung. Man kann an den Querwänden der lebenden Zellen sehr gut ohne besondere Behandlung die Perforation der Querwände in Form von ovalen Löchern erkennen. Im

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Entwickelungscyklus der Botrytis werden mehrere Arten von zwerghaften Sporenträgern mit Sporidien beobachtet. a) Die einen entwickeln in Ketten stehende Konidien, b) die anderen in kleinen Gruppen auf sichelförmigen Sterigmen sitzende Sporen.

Scheibentragende Hyphen. In Kulturen in Mostgelatine erzeugen die Hyphen, wo sie das Glas berühren, förmliche Scheiben (wie die Haftorgane), die kurze faserige peitschenförmige Zweige treiben.

Fusionen. Die Hyphen jeder Art und selbst die keimenden Sporen fusionieren leicht. Beim Eingehen des Mycels verdickt und bräunt sich die Membran einzelner Hyphenglieder. An den zerrissenen Hyphen bemerkt man eine durch Auswachsen der lebenden Nachbarzelle entstehende Erneuerung ihres Inhalts.

Gliederung nach Art des Oidium. Hierbei handelt es sich um eine bisher nicht beobachtete Erscheinung. Die Haftorgane von einer 19 Tage alten Kultur hatten sich nach Zusatz von Mostgelatine nach 4 Tagen kräftig entwickelt. Mehrere Hyphen hatten ziemlich dicht stehende Querwände gebildet und die dadurch entstandenen Glieder waren alle kugelförmig aufgeschwollen. Die Endzelle ist gewöhnlich birnförmig und auf den Querwänden ist deutlich die Perforierung zu sehen. Die Elemente isolieren sich später ähnlich wie bei Oidium. Die Gliederung der Hyphen geschieht binnen einer verhältnismäßig kurzen Zeit; in 1—2 Tagen sind die Zellen vollständig isoliert. Die ovalen Zellen sind von lichtbrechendem, undurchsichtigem Aussehen, der Inhalt ist kaum sichtbar und verschwindet rasch, und die abgetrennten Zellen sind mehr oder weniger leer. In dem Plasma der tiefer in die Gelatine eingedrungenen Zellen sieht man sehr große Vakuolen. Der Inhalt dieser Zellen steht mit dem der benachbarten Zellen durch Preforierung der Querwand in unmittelbarer Kommunikation.

Ausscheidung der Hyphen. In Gelatinekulturen bemerkt man zuletzt, wenn der mittlere Teil ziemlich erschöpft ist, am Ende der Hyphen oder um sie herum sehr eigentümlich aussehende, stark lichtbrechende Körper, die wahrscheinlich mit Protoplasmaausscheidungen in Zusammenhang stehen. Dies ist die letzte Phase der Desorganisation.

Laubert (Berlin-Steglitz).

**Gabotto, L.,** Di un ifomicete parassita della vite. (Nuovo Giorn. botan. ital. Vol. XII. p. 488—493. Mit Abb.)

Als Parasit des Weinstockes wird Pionnotes Cesatii (Thüm.) Sacc., ein Fadenpilz, angegeben, den Briosi und Farneti (1902) als eine Flechte, Chrysogluten, bezeichnet hatten. Derselbe erzeugt am Grunde der beschnittenen Rebenstöcke hypertrophische Bildungen, in derem Innern stark verzweigte Hyphen sich schlängeln; nach und nach werden die Hypertrophieen abgegrenzt von dem gesunden Stamme und abgestoßen. Ende März erscheinen die Fruchtkörper des Pilzes als fleischrote Lappen auf den Schnittflächen; später werden dieselben membranartig und legen sich dicht der Rinde an, um bald darauf vertrocknet, in Form von braunen Schuppen abzufallen. Der Weinstock wird dabei immer mehr erschöpft; er zeigt mehrere Risse im Innern und wird leicht brüchig; nach etwa 4 Jahren ist die Pflanze tot.

Die erwähnten Hyphen sind scharf lichtbrechend, stellenweise erweitert, septiert, haben 2—3 $\mu$ im Durchmesser und winzige Oeltröpfchen im Inhalte. Die Konidien stehen einzeln, sind spindelförmig und gekrümmt, gewöhnlich mit 2—3 Scheidewänden, von zartrosenroter Farbe, sie messen 10—50 $\asymp$ 4—6 $\mu$. Solla (Pola).



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Kienitz,** Kampf gegen den Kiefernbaumschwamm. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1906. Heft 2.)

Verf. berichtet über die in der Oberförsterei Chorin im Kampf gegen den Hausschwamm durchgeführten Maßregeln:

1) Verhinderung des Abreißens trockener Aeste seitens der Holzsammler durch rücksichtslose Wegnahme eines jeden dazu benutzten Hakens, dabei aber bereitwillige Ueberlassung von Abraumreißig.

2) Schwammholzhiebe und Aushieb der Schwammbäume bei allen Durchforstungen.

3) Entfernung der Pilzkonsolen und Anstreichen der Abbruchstellen mit antiseptischen Stoffen, erst jüngst durchgeführt. Die dabei vorgesehene Arbeitsteilung wird eingehend dargestellt. Kosten auf den Hektar bei Schwammvertilgung an 204 Bäumen auf 6,7 ha mit 1284 Stämmen betragen 1,17 M. pro Hektar. Ehrenberg (Breslau).

**Vuillemin, P.,** Recherches sur les champignons parasites des feuilles de Tilleul. (Cercospora, Phyllosticta, Helminthosporium.) (Ann. mycol. Vol. III. 1905. No. 5. p. 421—426. Mit 15 Textabbild.)

In der Einleitung werden die auf Lindenblättern lebenden Pilze aufgezählt; dann geht Verf. zu drei Arten über, die er eingehender beschreibt und zum Teil abbildet. 1) Cercospora microsora Sacc. (= C. Tiliae Peck.) konnte in allen Entwickelungsstadien studiert werden, weshalb die Diagnose des Pilzes bedeutend erweitert werden konnte. 2) Phyllosticta bacteroides Vuill. sp. nov. wurde mit dem Vorgänger auf lebenden Blättern von Tilia silvestris bei Nancy gefunden. Diagnose: Mycelio hyalino tenuissimo, 1 $\mu$ diam., septato, intercellulari. Sporulis bacillaribus utrinque obtusis, minimis, hyalinis, medio non vel vix constrictis, 3,45—3,75 $\times$ 0,6 $\mu$. Peritheciis hypophyllis sparsis 50 $\mu$ diam., sphaericis, olivaceis, contextu plectenchymatico. Subepidermide dorsali, in maculis atro-brunneis, medio fuscescentibus 0,5 —1,5 $\mu$ diam. — 3) Helminthosporium Tiliae Fries wird auch als Parasit auf den Blättern von Tilia platyphylla erkannt, wo er unter den gleichen Bedingungen wie Cercospora microsora auftritt.
Matouschek (Reichenberg).

**Buller, A. H. R.,** The reactions of the fruitbodies of Lentinus lepideus Fr. to external stimuli. (Annals of Botany Vol. XIX. 1905. p. 427—439. Mit Taf. XXIII—XXV.)

Die Fruchtkörper hatten sich an faulenden Blöcken des Holzpflasters von Birmingham gebildet. Die Papillen, von welchen sich die Fruchtkörper abhoben, wachsen senkrecht zur Oberfläche des Mycels aus und sind unabhängig vom Licht. Vor der Entwickelung des Hutes ist der Stiel unabhängig von geotropischen Reizen. Im Dunkeln ist er rektipetal, im Licht + heliotropisch. Im Dunkeln erreicht er eine Länge von 6 oder mehr Zoll, ohne eine Spur eines Hutes zu bilden. Während der Entwickelung des Hutes ist der Stiel negativ geotropisch und hat seine heliotropische Empfindlichkeit verloren. An schiefen Stielen werden die Hüte ungleich ausgebildet. Die längsten Lamellen befinden sich an der der unteren Seite des Stieles entsprechenden Hälfte. In schwachem Licht neigen die Fruchtkörper zur Verzweigung. Die Art der Reaktion der Fruchtkörper auf äußere Reize steht in enger Beziehung zur Sporenausstreuung. Neger (Tharandt).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Zach, Franz,** Ueber Erineum tiliaceum. (32. Jahresbericht d. k. k. Franz-Josef-Staatsobergymnasiums zu Saaz in Böhmen. Saaz 1905. p. 1—5. Mit 2 Taf.)

Der auf dem Flugblatte von Tilia ulmifolia und T. platyphyllos auftretende Filz (Erineum) ist bekannt; Verf. beschreibt ausführlicher die Details der Veränderungen des Pflanzengewebes und konstatiert das fast stete Vorkommen eines Pilzes im Filze. Die systematische Stellung wurde noch nicht sichergestellt, doch sind Gameten, Kopulation und Schwärmsporen gesehen worden. Infektion fiel negativ aus. In biologischer Beziehung scheint der Pilz recht interessant zu sein, da es sich wohl um eine Art von Symbiose handelt: Die Gallmilbe bereitet dem Pilze das Substrat vor, während der Pilz der Milbe den Weg zu den in den Haaren aufgespeicherten Nährstoffen freimacht, da er die Zellmembranen durchbohrt, die der Milbe mit ihren doch schwachen Mundwerkzeugen zu bewältigen schwer fallen würde. Die eine Tafel zeigt anatomische Details des Erineums, die zweite zeigt Details des Pilzes. — Weitere Studien über den Pilz wären sehr erwünscht. Matouschek (Reichenberg).

**Knotek,** Zweiggallen von Phytoptus pini Nalepa an der Weißkiefer. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1906. Heft 2.)

Verf. berichtet über Zweiggallen von Phytoptus pini, die er an Weißkiefern in Privatforsten bei Serajewo, Bosnien, auffand. Die Gallen traten so massenhaft auf, daß in einzelnen Kronenpartieen fast die Hälfte der schwachen Zweige damit besetzt war. Durch das abnorme Wachstum der Zweige erschien die Krone verdichtet und bekam so in einzelnen Teilen ein hexenbesenartiges Aussehen. Beschädigung der älteren Gallen durch Meisen konnte festgestellt werden. Ehrenberg (Breslau).

**Tubeuf, von,** Hexenbesen an Pinus Strobus. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtsch. 1905. Heft 12.)

Verf. teilt einen, der Literatur nach fünften, Fund von Hexenbesen an Pinus Strobus im Fürstlich Fuggerschen Schloßpark Wellenburg bei Augsburg mit. Ehrenberg (Breslau).

**Pée-Laby, E.,** La Passiflore parasite sur les racines du Fusain. (Revue générale de Botanique. T. XVI. p. 453—457. fig. 74—76.)

Der Verf. hat die Passionsblume (Passiflora coerulea), welche sich gewöhnlich mittels ihrer eigenen Ernährungsorgane entwickelt, mit der Basis des Stengels auf einer verzweigten Wurzel von Evonymus japonicus aufsitzend gefunden. An dem Vereinigungspunkte mit der Wurzel des Evonymus zeigt der Stengel der Passionsblume eine ziemlich ausgesprochene Anschwellung; diese Anschwellung rührt von Saugfasern her, welche das Holz des Stengels schräg durchschneiden und in dasjenige der Wurzel eindringen, um sich mit den Zellen der Markstrahlen zu vereinigen. Dieser Fall von gänzlich isoliert und zufällig dastehendem Halbparasitismus kann mit dem eigentlichen Aufpfropfen verglichen werden. Houard (Paris).

**Banks,** The principal insects injurious to the coconut-palm. Part I. (The Philippine Journ. of Science. Vol. I. No. 2. p. 143.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Kokosnußpalme hat nur wenige Feinde unter den Insekten aufzuweisen, diese wenigen sind aber dafür um so gefährlicher. Einer der wichtigsten Schädlinge, über dessen Biologie die Meinungen dabei noch geteilt sind, ist „the Rhinoceros beetle“ (Oryctes Rhinoceros L.), ein echter Tropenbewohner, der überall sich findet, wo die Kokospalme gedeiht. Seine Anwesenheit verrät sich durch große, unregelmäßige Höhlungen in den Stämmen oder der Basis der größten Blätter.

Während der erwachsene Käfer, dessen Männchen durch ein besonders stattliches Horn ausgezeichnet ist, oft in Haufen verwesender Pflanzenreste gefunden wird, bevorzugt die Larve den Vegetationspunkt, die empfindlichste Stelle der ganzen Kokospalme, deren Verletzung nicht selten das Eingehen des Baumes zur Folge hat. Hierhin gelangen die Larven dadurch, daß das Weibchen die oben erwähnten Löcher in den Stamm der Palme bohrt und darin die Eier ablegt, aus welchen sich die Larven entwickeln, die sich dann die ihnen am besten zusagende Stelle erwählen. Da der Nashornkäfer das Licht meidet, geschehen diese ersten Angriffe auf den Stamm des Nachts und am Morgen ist bereits der ganze Käfer im Baume verschwunden.

Die Larven können unter Umständen die ganzen Stämme aushöhlen, die dann, mit weichem Mulm gefüllt, oft plötzlich zusammenstürzen. Dieser Mulm ist Veranlassung gewesen, daß einzelne Autoren namentlich in Anbetracht der Tatsache, daß alle Stadien des Käfers auch in verwesenden Pflanzenresten gefunden werden, Oryctes Rhinoceros als einen unschädlichen Gast der Kokospalme bezeichnet haben, den der Mulm angelockt hat, während dieser in Wirklichkeit erst das Produkt der zerstörenden Tätigkeit des Käfers ist, dessen einzelne Entwickelungszustände vom Ei bis zum fertigen Insekt Verf. an der Hand guter Abbildungen genau erläutert, ebenso wie die einzelnen Stadien seiner Zerstörungstätigkeit.

Als Abwehrmittel nennt Verf. sorgfältige Klärung des Terrains in der Umgebung der Palmen und Töten der Käfer mit dem „beetle spear“ in den Höhlungen, wozu freilich eine nicht unbeträchtliche Uebung gehört. Das anderweit vorgeschlagene Hinlegen gespaltener Palmen gewissermaßen als Fangpflanzen, ist wirkungslos. Wunden der Palmen müssen sorgfältig verschlossen werden, ebenso die leeren Käferlöcher, wozu Teer u. a. m. gute Dienste leistet.

Die Filipinos legen Sand und Salz in die Krone der Palmen und behaupten, daß der Sand dem bohrenden Käfer in das weiche Gelenk zwischen Kopf und Thorax falle, dieses durchreibe und das Tier töte, was nicht ganz unwahrscheinlich ist. Auch Urin, in die Krone der befallenen Palmen gegossen, soll ein gutes Gegenmittel sein.

Wo der Nashornkäfer die harte Außenrinde der Kokospalme verletzt hat oder in anderer Weise, namentlich beim Ersteigen der Bäume durch die Eingeborenen Wunden in der Rinde entstanden sind, finden „the weevils“ andere Parasiten, ihren Weg ins Innere des Stammes, in dem sie resp. ihre Larven dieselben Verheerungen anrichten, wie die Larven des Nashornkäfers. Oft geht die Zerstörung des Stamminnern so weit, daß von der ganzen Palme nur ein Hohlcylinder stehen bleibt. Diese Käfer sind noch gefährlicher als Oryctes, da sich ihre Anwesenheit äußerlich durch nichts verrät, bis die völlig ausgehöhlte Palme zusammenbricht. Als Abwehrmittel ist eigentlich nur sorgfältige Vermeidung von Verwundungen der Palmen zu nennen, denn eine unverletzte Palme ist vor den Angriffen der Käfer sicher, da sie zu schwach

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind, die Rinde zu durchbohren. Sind sie aber erst einmal ins Innere des Stammes gelangt, so ist kaum mehr etwas zu machen, sondern die Palme wird langsam, aber sicher zerstört.

Verf. gibt eine ausführliche Beschreibung von 4 gefährlichen Schädlingen dieser Gruppe: 1) Rhynchophorus ferrugineus (Asiatic palm weevil), 2) Rhynchophorus spec. (noch nicht identifiziert, nahe verwandt mit 1), 3) shot-hole coconut weevil (noch nicht identifiziert) und 4) Cyrtotrachelus spec. (Bofiuga weevil, noch nicht genau bestimmt), die sich in Lebensweise und Gefährlichkeit gleichen.

Den Schluß bildet die Beschreibung des nur auf toten Palmen lebenden four-spotted coconut weevil, der gleichfalls noch nicht identifiziert ist. Zahlreiche, nach Photographieen gefertigte Tafelbilder dienen zur Illustration der verdienstlichen Zusammenstellung.

Vageler (Königsberg).

**Schouteden, H.,** Un nouvel ennemi du Cacaoyer en Afrique. (Ann. Soc. entom. Belg. T. L. 1906. p. 37—39.)

Eine gleichzeitig von Busse in Kamerun auf jungen Trieben und Blättern des Kakaobaumes entdeckte und aus dem französischen Kongogebiet eingesandte Aphide wird von Sch. nach den Stadien der Fundatrix und Alata als Toxoptera theobromae beschrieben. Angaben über die Lebensweise und phytopathologische Bedeutung der Art wird Busse im Rahmen einer größeren Arbeit über die Krankheiten des Kakaobaumes und der Baumwollstaude machen. Jacobi (Tharandt).

**Maxwell-Lefroy, H.,** The insect pests of cotton in India. (The Agricultural Journal of India. Vol. I. 1906. Part. I. January. p. 49—61. 4 Taf.)

Die schädlichen Insekten, welche in Indien auf Baumwolle auftreten, sind bis jetzt noch nicht genauer studiert worden. Der Schaden, welchen sie der Baumwollkultur in Indien zufügen ist sehr groß. Eingehend werden beschrieben: die gewöhnliche Baumwoll-Aphide, Dysdercus cingulatus, Gelechia gossypiella, Sphenoptera gossypii.

Von größter Bedeutung ist es, die Baumwollzüchter auf die vorhandenen Gefahren aufmerksam zu machen, die meisten kennen die Insekten nicht. Verf. geht zuletzt ein auf die Bekämpfungsmittel.

v. Faber (Berlin).

**Chrétien, P.,** Les chenilles des Santolines. (Le Naturaliste. Année XXVII. Paris 1905. p. 129—131. 3 fig.)

Nach einer in früheren Artikeln gegebenen Uebersicht über die meisten auf den verschiedenen Arten des Genus Santolina lebenden Lepidopteren beschreibt der Verf. mehrere gallenbildende Conchylis. Er erinnert zunächst daran, daß die Raupe von Conchylis corsicana nach Walsingham in Korsika eine Galle auf den Stengeln von Santolina chamaecyparissus hervorruft. Die Raupe von C. austrinana erzeugt gleichfalls Gallen auf den Stengeln von Santolina rosmarinifolia in Kastilien und von S. chamaecyparissus im Departement Herault.

Im Departement Basses-Alpes bringen die Gallen der letztgenannten Pflanze eine Conchylis hervor, die infolge ihres kleineren Wuchses, ihrer Gesamtfärbung und der Farbe ihrer Unterflügel eine Varietät von C.

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

austriana zu sein scheint, welche der Verf. Varietät florana benennt. Die von dieser Varietät erzeugten Gallen sind von denen von C. austriana sehr verschieden: sie sind von schwächerem Umfange und sitzen stets an der Basis des Stengels inmitten von Zweigen und Blättern verborgen.

Schließlich war der Verf. in der Lage, in Kastilien eine andere gallenbildende Cochylis zu untersuchen, die Santolina rosmarinifolia eigentümlich ist: Die kleine im Mai ausschlüpfende Raupe dringt an der Spitze des Stengels in die Kalathide ein, frißt den mittleren Teil der Placenta, und dringt dann etwa 5 mm in den Stengel ein, der infolgedessen anschwillt. Dort geht die Metamorphose der Raupe in einer Hülle von weißer Seide vor sich, aus welcher der Schmetterling im März und April des nächsten Jahres auskriecht.

Houard (Paris).

**Ludwig,** Die Aepfel und die Wohnungsmilben. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 1.)

Verf. bespricht den Zusammenhang der Wohnungsverseuchung durch Glycyphagus domesticus mit dem Aufspeichern von Aepfelvorräten in den Wohnungen.

Bei Untersuchung von Apfellagern in Greiz, benachbarten Dörfern und größeren Orten fand sich Glycyphagus domesticus nicht nur an verschimmelten, sondern auch an ganz frischen Aepfeln ausnahmslos in größeren oder geringeren Mengen vor, auch konnte Wohnungsverseuchung durch Milben als von Apfellagern ausgehend nachgewiesen werden.

Die Verbreitung der Milben an den Aepfeln ist so allgemein, daß die Blüten- und Stielvertiefungen der Aepfel als der gewöhnlichste Ort des Vorkommens der Hausmilbe bezeichnet werden können. Von dort aus können dann leicht die Tiere sich weiter verbreiten, weshalb man Aepfel nicht in der Nähe von Polstermöbeln, Kleidern, tapezierten Wänden u. dergl. aufbewahren sollte. Im Notfall ist Desinfektion durch Schwefelkohlenstoff anzuwenden.

Die Ursache des Vorkommens der Milben in den beiden Vertiefungen der Aepfel scheinen dort in den Trichomen wuchernde Pilzhyphen zu sein, denen die Tiere eifrig nachgehen. Ehrenberg (Breslau).

**Mewes,** Der Kiefernspinner in Schweden 1903 und 1904. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1906. Heft 1.)

Aus den Erfahrungen, die Verf. gelegentlich der Bekämpfung des Kiefernspinners in Schweden im Jahre 1903 und 1904 machte, ist besonders hervorzuheben, daß nach seinem Dafürhalten

1) es überflüssig ist, junge Bäume zu durchforsten und zu leimen oder zu schlagen, wenn sich ältere geleimte Bäume in der Nähe finden,

2) in denjenigen Jahren, die auf Falterjahre folgen, 2 cm breite Leimringe vollkommen genügen,

3) der Kiefernspinner in Skandinavien 2 Jahre zu seiner Entwickelung braucht, wenigstens unter den Breitengraden, wo er 1903/04 auftrat. Ehrenberg (Breslau).

**Criddle,** The fly agaric and how it affects the cattle. (The Ottawa Naturalist. 1906. No. 11. p. 203.)

Verf. teilt aus seiner Praxis als Landwirt in Manitoba interessante

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beobachtungen über den Fliegenpilz (Amanita muscaria) mit, speziell über die Wirkung des Genusses auf Vieh.

Amanita muscaria findet sich während der Monate Juli und August im Gebiete in großer Menge, besonders auf den mehr sandigen Bodenarten in den Wäldern, und zwar mit Vorliebe unter „Ground Cedar" (Juniperus Sabina var. procumbens). Vergiftungen mit dem Pilze sind daher recht häufig bei Weidevieh zu beobachten. Kälber, die jünger als ein Jahr sind, gehen in wenigen Tagen rettungslos ein. Bei mehr als ein Jahr altem Vieh setzt wenige Stunden nach dem Genuß des Pilzes außerordentlich heftiger Durchfall ein. Die Tiere scheinen dabei beträchtliche Schmerzen zu leiden. Milchkühe geben nur geringe Mengen Milch. Letzteres schreibt Verf. jedoch mehr dem Durchfall als einer spezifischen Giftwirkung des Pilzes zu, „besonders da üble Folgen bei Menschen nach dem Trinken solcher Milch niemals beobachtet sind".

Etwas leichter sind die Vergiftungserscheinungen, wenn die Tiere eine weitverbreitete Boletus-Art fressen.

Gegenmittel sind nicht bekannt. Verf. ist überzeugt, daß das Vieh nur dann Pilze frißt, wenn es nicht genügend Salz erhält, und glaubt, durch reichliche Salzgaben die Tiere völlig vom Genuß der Pilze abhalten zu können. Vageler (Königsberg).

## Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Rella, Attilio,** Das biologische Reinigungsverfahren. (Gesundheitsingenieur. Bd. XXIX. 1906. No. 1, 3, 5.)

Nach einer historischen Einleitung über die Entstehung und Einführung des biologischen Klärverfahrens für Abwässer stellt Verf. die drei Hauptanschauungen nebeneinander, die die Wirkungsweise des Verfahrens zu erklären suchen:

1) Die sogenannte „englische" Auffassung, welche die reinigende Wirkung bei dem Verfahren vorwiegend „biologischen Prozessen" zuschreibt. Danach durchläuft die Reinigung drei Stadien, die durch das stufenweise Arbeiten von drei verschiedenen Bakteriengruppen beeinflußt sind. Der Reinigungseffekt wird der höchste, wenn jede der drei Bakteriengruppen die besten Arbeitsbedingungen vorfindet und ohne Störung wirken kann. Die folgende Tabelle, nach Rideal, zeigt die Grenzen der drei Stadien:

(Siehe Tabelle p. 296.)

2) Die Dunbarsche Erklärung: Die reinigende Wirkung beim biologischen Klärverfahren beruht auf „Ad- und Absorptionswirkungen" und daran anschließend chemischen Prozessen im Filter (Oxydationskörper). „Biologische Prozesse" treten erst in den Entlüftungspausen, also bei der sogenannten „Regeneration" des Oxydationskörpers auf.

3) Die Bredtschneidersche Anschauung: Die reinigende Wirkung ist eine rein mechanische, beruhend auf physikalischen „Filtrationsvorgängen". Mikroorganismen treten erst bei der Regenerationsarbeit auf. Seligmann (Berlin).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| Vorgänge | Einwirkung auf | Charakteristische Produkte |
|---|---|---|
| Uebergang: Kurze Einwirkung der Anaëroben durch den im Wasser gelösten Sauerstoff; schnell überführend zum: | Urin, Ammoniak, mit leicht zersetzbaren Substanzen. | |
| I. Stadium: Anaërobische Verflüssigung und Vorbereitung durch hydrolytische Spaltung. | Eiweißstoffe, Cellulose und vegetabilische Fasern, Fette. | Lösliche, Salpeter bildende Verbindungen. Derivate des Phenols, Gase, Ammoniak. |
| II. Stadium: Fakultativ-bakteriologische Zersetzung der zur Lösung gebrachten Verbindung. | Stärkeverbindungen, Fettsäuren, gelöste Rückstände, Phenolverbindungen. | Ammoniak, Nitrite, Gase. |
| III. Stadium: Vollständige Belüftung, Nitrifikation. | Ammoniak- und kohlenstoffhaltige Rückstände. | $CO_2$, $H_2O$ und Nitrate. |

**Hetsch,** Ueber den heutigen Stand der Frage der Trinkwassersterilisation durch Chemikalien. (v. Leuthold-Gedenkschrift.) Berlin (A. Hirschwald) 1906.

Die zahlreich empfohlenen Methoden, durch Zusatz bestimmter Chemikalien zu verdächtigen Wässern ein Trinkwasser zu gewinnen, welches jede Infektionsgefahr ausschließt, dabei aber schmackhaft und bekömmlich ist, haben sich bisher sämtlich nicht bewährt. Weder die Behandlung mit Brom nach Schumburg bewirkt eine sichere Sterilisierung, noch auch kann die Chlorkalksterilisation in der früher empfohlenen Form als zuverlässig gelten. Neuerdings wurde der Chlorkalk in einer anderen Form zur Trinkwassersterilisation empfohlen. Das von Duyk angegebene „Ferrochlorverfahren" beruht auf der gleichzeitigen Verwendung von Eisenchlorid und Chlorkalk und bezweckt, daß das hierbei aus dem Chlorkalk freiwerdende Chlor in statu nascendi auf die im Wasser enthaltenen Bakterien einwirkt. Bei Nachprüfung dieses Verfahrens an größeren Wasserproben, die mit Cholera-, Typhus- und Ruhrbacillen infiziert waren, erwies sich auch dieses Verfahren als unwirksam. Selbst die doppelte Menge der Chemikalien, die angeblich eine völlige Sterilisierung von Seinewasser (mit 1800 Keimen pro ccm) bewirkt hatten, genügte bei einer 40 Minuten währenden Einwirkung nicht, um die eingebrachten Keime abzutöten. Die Frage, wie groß die Mengen Chlor sein müssen, die zur Erreichung einer Keimvernichtung im Wasser entwickelt werden müßten, wurde auf zweierlei Weise zu lösen gesucht: 1) durch Verwendung chemisch reinen Chlorhydrats und 2) durch Einleitung von reinem Chlorgas. Die hier zur Verwendung kommenden Chlormengen ließen sich durch Titration genau berechnen. Die Resultate waren auch hier sehr schwankende. Nicht einmal 234,3 mg Chlor vermochten in 1 Liter Wasser die eingesäten Typhusbacillen (1 Oese) stets abzutöten. Wie die Verschiedenheiten in der Wirkung, die auch anderen Autoren bei Arbeiten mit Hypochloriten auffielen, zu erklären sind, ist schwer zu sagen. Jedenfalls würden die Mengen des zu einer sicheren Wassersterilisierung benötigten Chlorkalks so große sein, daß von einem

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

für die Praxis der Trinkwassersterilisation brauchbaren Verfahren nicht die Rede sein kann. — Weiterhin wurden die als Wassersterilisationsmittel wiederholt empfohlenen Fluorverbindungen bezüglich ihrer Wirksamkeit gegenüber pathogenen Bakterien im Trinkwasser geprüft. Fluornatrium vermochte in Mengen von 0,3 g pro Liter nicht einmal nach mehrstündiger Einwirkungsdauer Typhusbacillen abzutöten. Ebenso versagten die Fluoride des Kaliums und des Ammoniums in den genannten Mengen vollständig. Den Alkalifluoriden gegenüber besitzt das Silberfluorid nicht unerhebliche bakterizide Wirkungen. Das unter dem Namen „Tachiol" von Paternò & Cingolani empfohlene Präparat vermochte in einer Menge von 0,005 g pro Liter $^1/_{10}$ Normalöse (= 0,2 mg) Choleraagarkulturmasse in 10 Minuten abzutöten, Typhus- und Ruhrbacillen in gleicher Menge in frühestens 20 Minuten. Bei sehr stark infizierten Wässern (1 Oese Kultur pro Liter) konnte allerdings auch 0,01 g Tachiol die Keime selbst nach $^1/_2$-stündiger Einwirkung nicht vernichten. Ganz ähnlich waren die Versuchsergebnisse beim „Isotachiol" (= Kieselfluorsilber). — Wasserstoffsuperoxyd ist neuerdings wieder in Form des sogenannten „Bicalcitverfahrens" (Freyssinge & Roche) zur Sterilisation von Trinkwasser empfohlen worden. Dem Wasser wird in bestimmten Mengen Calcium peroxydatum und danach ein schwefelsaure Tonerde enthaltendes Pulver zugesetzt. Das durch deren Verbindung im Wasser freiwerdende Wasserstoffsuperoxyd soll in statu nascendi in viel kleineren Dosen bakterizid wirken, als wenn es in Substanz dem Wasser zugefügt wird. Der entstehende voluminöse Niederschlag setzt sich bald ab und wirkt klärend. Nachher wird das Wasser noch durch ein kleines Filter geschickt, das in einem Aluminiumcylinder zwischen zwei Schichten hydrophiler Watte Braunsteinkörner enthält. Die Angabe, daß 0,3 g von jedem der beiden Pulver pro Liter genüge, um auch stark verunreinigtes Wasser keimfrei zu machen, konnte nicht bestätigt werden. 0,5 g konnten zwar $^1/_{10}$ Oese Typhusbacillen in 1 Liter Wasser bei 20 Minuten dauernder Einwirkung abtöten, bei stärker infizierten Wässern jedoch (1 Oese Kultur pro Liter) versagten sogar die doppelten Mengen der Chemikalien. Die Resultate mit dem vergleichsweise geprüften reinen Wasserstoffsuperoxyd (Perhydrol-Merck) fielen ganz analog aus. Die Wirkung des Bicalcitverfahrens ist zudem nicht allein auf Rechnung der entwickelten Wasserstoffsuperoxydmengen zusetzen, sondern beruht daneben auf der mechanischen Fällung der Bakterien durch den entstehenden Niederschlag. Es ließ sich dies dadurch beweisen, daß mehrfach in dem Niederschlag Typhusbacillen nachgewiesen wurden, wo das vorher abfiltrierte Wasser sich als keimfrei erwies. Auf die sichere Wirkung derartiger primitiver Filter darf man sich aber nicht verlassen. Autoreferat.

**Erlwein, G.**, Einzelanlagen zur Sterilisation von Trink- und Industriewasser durch Ozon. (Gesundheitsingenieur. Bd. XXIX. 1906. No. 6, 8.)

Nachdem sich das Ozon als Sterilisationsmittel für Trinkwasser in zentralen Anlagen gut bewährt hat, wurden auch Einzelanlagen für kleinere Betriebe notwendig. Verf. gibt Konstruktionen und Abbildungen einer ganzen Reihe solcher Apparate, die bezüglich Leistungsfähigkeit und Betriebssicherheit alle Proben bestanden haben. Sie stellen dar:

1) Konstruktionen zu experimentellen Sterilisationsarbeiten in wissenschaftlichen, bakteriologisch-hygienischen Instituten,

2) für kleinere, stationäre Ozonanlagen zur Herstellung kleinerer

Generated on 2019-09-21 15:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Mengen ozonsterilisierten Trink- und Gebrauchswassers für die Konsumbedürfnisse kleinerer Kommunen und den Reinwasserbedarf mancher Industrieen,

3) für fahrbare, militärische Anlagen zur Wasserversorgung der Truppen im Felde und in Kasernements. Seligmann (Berlin).

**Howard-Jones, J.,** Cupper-sulfate-treatment of reservoirs. (The Water. Vol. VII. 1905. No. 84.)

Newport, das sein Trinkwasser aus Staubecken bezieht, hatte häufig unter fischigem Geschmack des Wassers zu leiden, wie es von gewissen Algenarten hervorgerufen wird. Versuche mit Kupfersulfat, mit dem das gesamte Wasser eines solchen Reservoirs im Verhältnis 1:1 Million bis 1:10 Millionen versetzt wurde, führten eine Koagulation des pflanzlichen Eiweißes, somit Tod von Algen und vielen Bakterien herbei und erbrachten ferner durch Sedimentierung des entstehenden Niederschlages eine schnelle und auffallende Klärung selbst ziemlich trüber Wässer. Das Kupfer muß langsam und möglichst gleichmäßig gelöst werden; Konzentrationen von 1:1 Million sind der Fischzucht schädlich, Verdünnungen von 1:10 Millionen sind relativ ungiftig. Das Kupfer verschwindet in einigen Tagen aus dem Wasser; für sofortige Gebrauchszwecke des Trinkwassers kann man es mit Calciumhydrat entfernen. Fischgeruch und Geschmack verschwinden vollkommen. Seligmann (Berlin).

**Battige, A.,** Abwasserdesinfektion. Ein Beitrag zur Frage der Desinfektionseinrichtungen bei Abwasserreinigungsanlagen. (Gesundheitsingenieur. Bd. XXIX. 1906. No. 8.)

Theoretische Betrachtungen, die zu dem Schlusse führen, eine Abwasserdesinfektion sowohl vor den Oxydationskörpern wie hinter denselben, wie im Faulraume selbst zu verwerfen, da die Erfolgssicherheit und Erfolgsmöglichkeit in gar keinem Verhältnis zu den enormen Kosten der Anlage und Unterhaltung stehen würden. In gleichem Maße gilt das für die Abwasserreinigung von Sanatorien und Krankenhäusern; wo solche Desinfektionseinrichtungen schon bestehen, sind sie vollkommen unzureichend und daher überflüssig. Seligmann (Berlin).

**Braun,** Der Stand der biologischen Abwasserreinigung. (Jahreshefte des Vereins f. Math. u. Naturw. Ulm a. D. Bd. XII. 1906. p. 97 ff.)

Die äußerst mangelhafte Selbstreinigung der Isar, durch die auf der Strecke von München bis Freising (32 km) auch nicht annähernd die Menge von Verunreinigungen beseitigt wird, die dem Fluß durch die Stadt München zugeführt werden, läßt jede Einleitung ungereinigten Abwassers selbst in große öffentliche Gewässer als höchst bedenklich erscheinen. Reinigung und damit Unschädlichmachung der Abwässer ist eine dringende Forderung der öffentlichen Gesundheitspflege. Aus praktischen Gründen kommt dafür nur das biologische Verfahren in Betracht, da dieses allein im stande ist, die gewaltigen Abwassermengen einer großen Stadt zu bewältigen.

Intermittierend arbeitende Filter, bestehend aus Behältern, die mit Koks oder Schlacke gefüllt sind und in denen das vorgefaulte Abwasser zur biologischen Reinigung bezw. Oxydation 2 Stunden verweilt, worauf das Filter erst wieder 2 Stunden auslüften muß, um die zurückbleibenden Stoffe zu zersetzen, haben eben den großen Nachteil dieses Wechsels,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu dem Bedienung erforderlich ist, da alle automatischen Vorrichtungen versagen. Deswegen hat man seit dem Beginn der Versuche mit biologischer Abwasserreinigung sich bemüht, ein kontinuierliches Verfahren ohne diese Nachteile aufzufinden, und sind diese Versuche, durch die sich namentlich englische Ingenieure verdient gemacht haben, von bestem Erfolge begleitet. Prof. Dunbar-Hamburg hat mit seinen Apparaten sogar noch bessere Erfolge zu verzeichnen gehabt, als das intermittierende Verfahren sie aufzuweisen hat, so daß man jetzt in der Lage ist, mit geringen Kosten sichere, kontinuierlich wirkende Abwasserreinigungsanlagen zu schaffen. Das allgemein dabei verfolgte Prinzip ist tropfenförmige Verteilung des Abwassers in einem aus Koks, Schlacke oder sonst geeigneten Material bestehenden Oxydationskörper.

Solche Anlagen kommen in erster Linie für Städte zur Anwendung, sind aber auch im kleinen leicht und sicher durchführbar, wofür Verf. genaue Vorschriften gibt.

Uneinigkeit herrscht noch darüber, ob der Vorgang der Reinigung ein physikalisch chemischer oder vorwiegend biologischer ist. Letztere Auffassung, daß Kleinlebewesen die organischen Stoffe der Abwässer direkt derart umbilden, daß nicht mehr fäulnisfähige Stoffe entstehen, ist namentlich in England herrschend, in Deutschland ist es mehr oder weniger verlassen. Eine Reinigung der „Tropfkörper" ist nach neueren Ansichten überflüssig. Es können dabei mit 1 cbm Körpermaterial täglich bis 0,7 cbm Abwasser gereinigt werden.

„Das Rieselverfahren, welches nichts anderes als ein Tropfkörperverfahren ist", reinigt das Abwasser jedenfalls am gründlichsten. Doch hat das Tropfkörperverfahren den Vorzug, überall anwendbar zu sein, was vom Rieselverfahren nicht gilt.

Die fäulnisfähigen Absätze aus den Klärbecken lassen sich direkt landwirtschaftlich verwerten oder aber, wie das Beispiel von Cassel seit 1902 zeigt, mit Erfolg auf Fett und Poudrette verarbeiten.

Kalk zur Desinfizierung der Abwässer hat sich nicht bewährt, „hingegen sind die Berge von Kalkschlamm, die sich in der Nähe der mit Kalk arbeitenden Kläranlagen allmählich abgelagert und aufgetürmt haben, zur Plage der beteiligten Städte geworden".

Zusammenfassende „Leitsätze" (von Brettschneider und Proskauer) bilden den Schluß des interessanten Sammelartikels.

Vageler (Königsberg).

**Vieth,** Die Verfahren zur Frischhaltung der Milch. (Fühlings Landwirtschaftl. Zeitung. 1906. Heft 4.)

In kurz zusammenfassender Darstellung spricht Verf. über die Gewinnung möglichst keimfreier Milch, die Frischerhaltung der Milch durch Anwendung niederer Wärmegrade, die Einwirkung höherer Wärmegrade, die Erhaltung der Milch durch Zusatz von Chemikalien und ähnliche Fragen. Die Abhandlung bietet wissenschaftlich nichts Neues.

Ehrenberg (Breslau).

**Magerstein, Vinz, Th.,** Laktoformol, ein neues Antiseptikum in der Brennerei. (Oesterreichische Brennerei-Zeitung. Jahrg. IV. 1906. No. 7.)

Laktoformol wird erhalten, wenn man 1 Liter Formaldehyd mit 10 Litern entrahmter, abgekochter und dann abgekühlter Kuhmilch vermischt und zu dem Gemisch 11 Liter kaltes Wasser hinzufügt. Von dem

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verdünnten Laktoformol gibt man 2—2,5 Liter in das Hefegut und dann 18—19,5 Liter in die Maische, nachdem diese auf etwa 20° R abgekühlt worden ist. Die 22 Liter Laktoformol reichen für 60 hl Maische. Bei Anwendung des Laktoformols sollen rund 3 Literprozent Alkohol pro 1 kg Stärke, d. h. bei einer täglichen Erzeugung von bis 4 hl Alkohol etwa 20 Liter Alkohol (abs.) mehr erzeugt werden.

Das Laktoformol greift die Hefezellen nicht an, so daß deren Gärkraft nicht abnimmt und verhindert die Bildung schädlicher Pilzorganismen.

Kausch (Halensee).

**Kornauth, Karl,** Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen Pflanzenschutzstation in Wien über das Jahr 1905. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1906. p. 209.)

Aus dem Bericht ist eingangs zu entnehmen, daß im Jahre 1905 an 894 Parteien 5019 Mäusetyphuskulturen und 1350 Rattenbacillenkulturen abgegeben wurden; zur Untersuchung wurden an die Station 456 tierische und 360 pflanzliche Objekte eingesendet und außerdem 1019 Anfragen gestellt. Die im Vorjahre inaugurierte Organisation des Pflanzenschutzes in Oesterreich hat weitere wesentliche Fortschritte gemacht, da sich bis jetzt ca. 500 Berichterstatter gemeldet haben und vorläufig ca. 30 Anstalten als Auskunftsstellen für Pflanzenschutz vom k. k. Ackerbauministerium in Betracht gezogen worden sind. Der Bericht zählt dann die eingelaufenen tierischen und pflanzlichen Objekte auf und sei aus den allgemeinen Mitteilungen folgendes entnommen: Auf Rosen ist der Pilz Coniothyrium Fuckelii als neu aufgetreten und einige Pilze, die gewöhnlich nur saprophytisch beobachtet wurden, traten als Schmarotzer auf, so Valsa salicina auf Weiden, Hercospora tiliae auf Tilia und Coryneum pulvinatum, gleichfalls auf Tilia. Die Gurkenperonospora (Plasmopara cubensis) hat an Ausbreitung zugenommen, sehr stark ist die durch Coryneum Beijerinckii hervorgerufene Erkrankung der Pfirsichbäume aufgetreten und sehr häufig war auch der Befall der Obstbäume durch Monilia und Fusicladium. Verhältnismäßig häufig waren Bakterienkrankheiten an Kartoffeln, Oel- und Maulbeerbäumen, Rosenzweigen, Erlenzweigen, Zweigen von Syringa vulgaris u. s. w. Rüben litten an Cercospora beticola, Birnbäume durch Gymnosporangium Sabinae. Korkstoppeln von Weinflaschen wurden durch die Raupen von Endrosis lacteella angefressen. Auf Hopfenblättern traten die Raupen der Motte Cnephasia Wahlbomiana auf und in den Stengeln derselben Pflanze die Raupen von Gortyna flavago. Sehr stark trat die Weinblattmilbe (Eriophyes vitis) auf Weinblättern auf und auffallend war das Auftreten des Fichtenquirlwicklers (Grapholitha pactolana), der jüngere Fichtenkulturen ernstlich bedrohte. Auf Fichtensamen trat in einem Falle als neu der Käfer Bembidium lampros auf. Von Interesse war das Auftreten der Heterodera radicicola auf Gurkenwurzeln durch die Mächtigkeit der durch diese Tiere verursachten Mißbildungen; an der Hauptwurzel saßen kugelige oder knollige Verdickungen dicht gehäuft nebeneinander und auch an den Nebenwurzeln fanden sich kugelige oder längliche Anschwellungen von wenigen Millimetern Dicke bis zu 1 cm Durchmesser. Die grünen Raupen der Kohlblattschabe, Plutella maculipennis, haben an verschiedenen Kraut- und Kohlsorten in den südlichen Kronländern häufig geschadet, während aus den nördlichen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Provinzen derartige Vorkommnisse nicht gemeldet wurden. Im Innern der Strünke und Wurzeln des Baumkohles wurden die Rüsselkäfer Lixus myagri und L. iridis und deren Larven konstatiert. Auf Stachys-Anpflanzungen fand sich die Milbenspinne Tetranychus telarius vor und an Erdbeeren und Rosenknospen lebte der Himbeerrüsselkäfer Anthonomus rubi. Auf Olivenpflanzungen in Dalmatien war die Schildlaus, Pollinia Pollini, allenthalben verbreitet und hat die befallenen Zweige zum Absterben gebracht. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Verbreitung dieses Schädlings eine viel größere ist, wahrscheinlich sogar alle jene Kronländer umfaßt, in welchen Olivenanpflanzungen sich in ausgedehnterem Maßstabe finden. Bezüglich der im Bericht hervorgehobenen Mitteilungen über die ausgeführten wissenschaftlichen Arbeiten und deren Ergebnisse muß auf die Abhandlung verwiesen werden. Stift (Wien).

**Devarda,** Die Görzer Prünellenindustrie mit besonderer Rücksichtnahme auf das „Schwefeln“ des Obstes. (Zeitschrift f. d. landwirtschaftl. Versuchsw. in Oesterreich. 1906. Heft 4.)

Aus der außerordentlich umfangreichen Arbeit können hier nur einige Mitteilungen u. dergl. hervorgehoben werden.

Zweck des Schwefelns:

1) Daß das Obst nicht dunkelbraun bleibt, sondern eine schöne lichtgelbe Farbe bekommt.

2) Lockerwerden des Fruchtfleisches, so daß das Trocknen an der Sonne schneller und gleichmäßiger vor sich geht.

3) Erzielung gewisser chemischer Veränderungen im Fruchtfleische, die für die Güte der Prünellen spezifisch sind.

4) Daß das frische, geschälte Obst während der Trockenperiode, besonders aber während der Nachtzeit, nicht von Schimmel- und anderen Pilzen befallen wird.

Nachdem mitgeteilt, daß bei rationell behandelten, einmal geschwefelten Prünellen der Gehalt an schwefliger Säure zwischen 6 und 35 mg pro 100 g schwankt, sowie daß nur bei einem Wassergehalt von 25—30, höchstens 31 Proz. wirklich handelsfähige, haltbare Produkte erzeugt werden können, wird weiter auf die organisch gebundene schweflige Säure in den Prünellen eingegangen. Ehrenberg (Breslau).

**Busse, Walter,** Ueber Aufgaben des Pflanzenschutzes in den Kolonieen. (Sonderabdruck aus den „Verhandlungen des deutschen Kolonialkongresses 1905.“)

Verf. hebt hervor, wie in neuerer Zeit eine planmäßige Bekämpfung der Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen für die Länder mit Kolonialbesitz auch auf ihre Kolonieen ausgedehnt wird. Vor allem waren es die Holländer, die, wie in allen Zweigen der tropischen Landwirtschaft, auch hierin mit gutem Beispiele vorangingen. Auch in Nordamerika und Britisch-Indien läßt sich eine beachtenswerte Zunahme der Förderung und Ausdehnung des Pflanzenschutzes konstatieren.

Verf. gibt einen kurzen Ueberblick über den derzeitigen Stand der Pflanzenkrankheiten und auch des Versuchswesens in den deutschen Kolonieen. Die Ausdehnung der Plantagenkulturen in den Schutzgebieten hat es mit sich gebracht, daß fast in sämtlichen belangreichen Kulturen tierische und pflanzliche Schädlinge in höherem oder geringerem Maße aufgetreten sind.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am stärksten bedroht ist Kamerun, besonders die Braunfäule der Kakaofrüchte und das Auftreten der Rindenwanze, welche stellenweise ganze Bestände verwüstet hat, fügen den Kakaoplantagen unberechenbaren Schaden zu. Hierzu kommen noch der sogenannte Wurzelpilz, der Kokao- und die Bockkäferlarven, welche die Castilloa elastica-Kulturen fast durchweg zum Scheitern gebracht haben. Im Jahre 1902 hatte das Kolonialwirtschaftliche Komitee in Berlin den Plan gefaßt, einen Fachmann nach Kamerun zu entsenden, der die Krankheiten der Kulturpflanzen an Ort und Stelle studieren und Mittel zur Bekämpfung ausfindig machen sollte.

Die Ausführung dieser „Pflanzenpathologischen Expedition" wurde dann dem Verf. übertragen.

Ebenfalls traten in Togo verschiedene Krankheiten und Schädigungen auf, besonders die Baumwoll-Volkskultur in Togo hatte viel hierunter zu leiden und wurde auch diese Frage mit den Aufgaben der „Phytopathologischen Expedition" verknüpft.

Für Ostafrika war seit Jahren eine weitgehende Organisation des Pflanzenschutzes zur Frage von größter Wichtigkeit geworden. Durch die Gründung des Biologisch-Landwirtschaftlichen Instituts Amanie ist nun die Kolonie ausgezeichnet versorgt. Samoa befindet sich zurzeit in ähnlicher Lage wie Togo.

Ohne die Gründung landwirtschaftlicher Institute wird auf die Dauer in keiner tropischen Kolonie, deren Existenz ganz oder teilweise auf landwirtschaftlicher Produktion basiert, sachgemäß und erfolgreich gearbeitet werden können.

Verf. geht weiter näher ein auf das Wesen und die Grenzen der Aufgaben des Pflanzenschutzes.

Als die wichtigsten Aufgaben des Pflanzenschutzes sind zu nennen: Die Bekämpfung der Krankheiten, die Verhütung der Verbreitung vorhandener Schädlinge innerhalb des betroffenen Landes oder Bezirks und die Maßregeln zur Verhinderung der Einschleppung tierischer oder pflanzlicher Schädlinge aus fremden Ländern.

Die Züchtung widerstandsfähiger Pflanzenformen und -Rassen hat in neuerer Zeit eine immer steigende Bedeutung gewonnen. So ist auch Verf. beim Studium der Baumwollkrankheiten in Togo zu der Ueberzeugung gelangt, daß man nur durch die Züchtung und den Anbau widerstandsfähiger Varietäten und Bastarde zu einem durchgreifenden Erfolge gelangen wird.

Je nach der Natur der Schädigung oder ihres Erregers, nach der Art des Betriebes, den örtlichen Verhältnissen und dem Werte des geschädigten Objekts, wird man entweder die eine oder die andere Methode der Bekämpfung zu wählen haben. Die Wahl der Bekämpfungsmethoden muß sich immer nach der Kulturstufe der Eingeborenen richten.

Wo ein einheitliches Vorgehen aller Beteiligten unerläßlich ist, werden behördliche Maßnahmen kaum zu umgehen sein.

Jedenfalls aber wird das Eingreifen der Behörden dann immer geboten sein, wenn es sich darum handelt, die Einschleppung von Schädlingen aus fremden Gebieten zu verhindern.

Die Aufgaben des Pflanzenschutzes in den Kolonieen würden natürlich am idealsten und erfolgreichsten gelöst werden können, wenn in jeder Kolonie mindestens ein Sachverständiger angestellt wird, der Behörden und Privatleuten beratend zur Seite steht.

Den Pflanzenschutz zweckmäßig regeln, bedeutet nicht nur den

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

modernen Bestrebungen Rechnung tragen, sondern auch die Produktion fördern zum Wohle unserer Kolonieen. v. Faber (Berlin).

**Kühle,** Die Anwendung von geschältem und desinfiziertem Rübensamen. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1905. Heft 23.)

Verf. berichtet über die Erfolge der von ihm ausgearbeiteten Schäl- und Desinfektionsmethode der Rübensamen, welche angebiich die Keimungsenergie sehr stark steigern, sowie die Keimlingspflanzen vor Angriffen von Pflanzenkrankheiten sichern soll. Es wird unter anderem auf einen empfehlenden Bericht der landwirtschaftlichen und bakteriologischen Versuchsstation zu Laôn verwiesen. Ehrenberg (Breslau).

## Bakteriologische etc. Institute.

**Slaus-Kantschieder, J.,** Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Spalato über das Jahr 1905. (Zeitschrift f. d. Landswirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1906. p. 259.)

Versuche der simultanten Bekämpfung der Peronospora und des Oidiums mittelst natriumthiosulfathaltiger Kupfervitriolkalkbrühe wurden fortgesetzt und mit dem Resultat beendet, daß der kombinierten Bordelaiserbrühe nur eine kurative, aber keine präventive Wirkung gegen das Oidium zugesprochen werden kann.

In Bezug auf Pflanzenschädiger hebt der Bericht zuerst hervor, daß Oidium geradezu verheerend aufgetreten ist. Nur in großen Weingärten, wo die Trauben mit sehr feinem Schwefel (70—90° Chancel) rechtzeitig und zu wiederholten Malen behandelt wurden, konnte der Ertrag gerettet werden, während hingegen bei gröberem Schwefel (ca. 60° Chancel) keine Wirkung nachgewiesen werden konnte. Natriumthiosulfat hat sich als ein vorzügliches Kurativmittel gegen Oidium erwiesen.

Ebenso heftig ist auch die Peronospora aufgetreten. Daß die Bekämpfung der Peronospora auf den Trauben nicht so vorteilhaft mit der Bordelaiserbrühe als mit den Kupfervitriolschwefelgemengen geschehe, erwies sich als vollständig irrig, vorausgesetzt natürlich, daß die Bespritzung auch auf den Trauben auf das sorgfältigste vorgenommen wird. Ziemlich stark trat die Weinblattmilbe (Phytoptus vitis) auf, während der Rebenstecher (Rhynchitis betuleti) keinen besonderen Schaden verursachte. Zwischen Bast und Splint von Pfirsich-, Apfel- und Birnbäumen, sowie auch in den Wurzeln derselben wurden sowohl Larven als Insekten der Art „Bupestris cariosa" konstatiert. Auf Pfirsichbäumen richtete die Raupe der „Diloba caerulocephala" einigen Schaden an und wurde zur Bekämpfung Tabakextrakt in 1-proz. Lösung mit bestem Erfolg angewendet. Auch zur Bekämpfung der alljährlich auf Melonen, einigen Fruchtbäumen und sonstigen Gewächsen auftretenden Aphis-Arten wurde fast allgemein Tabakextrakt in wässeriger, noch besser aber in 1-proz. Seifenlösung angewendet. Erwähnung verdient ein merkwürdiges Mittel, welches einige Bauern mit Erfolg gegen Aphiden angewendet haben; nach landesüblicher Art wird der Stockfisch früher mit einem Holzhammer geklopft, sodann in kaltem

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wasser durch 1—2 Tage eingeweicht und erst dann gekocht; daß an Salze und Tran angereicherte Wasser wird je nach seiner Konzentration, d. i. nach dem Grade der Klebrigkeit zwischen den Fingern entweder direkt oder nach dem Verdünnen mit Wasser als Bekämpfungsmittel gegen Aphiden verwendet. Stift (Wien).

# Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

## Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

**Aderhold, Rud.**, Die kaiserl. biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft in Dahlem. Berlin (Parey) 1906. 20 p. 10 Fig. (= Mitt. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Heft 1.) —,40 M.

—, Bericht über die Tätigkeit der k. biol. Anstalt für Land- u. Forstwirtschaft im Jahre 1905. 1. Jahresbericht. Berlin (Parey) 1906. 40 p. (= Mitt. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Heft 2.) —,60 M.

**Ball, M. V.**, Essentials of bacteriology. 5. edition, revised by K. M. **Vogel**. London 1906. 244 p. M. Fig. 4,50 M.

Bericht über die vom 20. Mai bis 20. Juli in der Anstalt eingegangenen Meldungen der Auskunftsstellen für Pflanzenschutz und deren Vertrauensmänner. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. Heft 8. p. 88—93. 1 Fig.)

**Dettmann, H.**, Neue Arbeiten der landwirtschaftlichen Versuchsstation des Staates New-York zu Geneva. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 150—151.)

**Galli-Valerio, Bruno**, Notes de parasitologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 6. p. 643—646; Heft 7. p. 745—749. 3 Fig.)

**Guiart, J.** et **Grimbert, L.**, Précis de diagnostic chimique microscopique et parasitologique. Paris 1906. 960 p. 8°. 3 Taf. u. 500 Fig. 12,50 M.

Jahresbericht des Vereines österreichische Versuchsstation und Akademie für Brau- und Malzindustrie in Wien, Michaelerstraße. N. 25. 1905. Wien 1906. 26 p. 4°.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, bearbeitet von H. Beckurts. Unter Mitwirkung von G. Frerichs u. H. Frerichs. Jg. XIV. 1904. Göttingen (Vandenhoeck u. Ruprecht) 1906. 224 p. 8°. [Aus Jahresber. d. Phamacie.] 7 M.

**Justs** botanischer Jahresbericht. Hrsg. v. F. Fedde. Jg. XXXII (1904). Abt. II. Heft 5. Berichte über die pharmakognostische Litteratur aller Länder vom Jahre 1904. (Schluß). Pflanzengallen und deren tierische Erzeuger. Leipzig 1906. p. 881—1056. 8°. 9,35 M.

**Justs** botanischer Jahresbericht, hrsg. v. F. Fedde. Jg. XXXIII (1905). Abt. I. Heft 1. Moose. Pilze (ohne die Schizomyceten und Flechten). Morphologie und Physiologie der Zelle. Leipzig (Borntraeger) 1906. 320 p. 8°. 17 M.

**Kirchner, O.**, Die Obstbaumfeinde, ihre Erkennung und Bekämpfung. Gemeinverst. dargestellt. 2. verm. Aufl. Stuttgart (Ulmer) 1906. IV, 40 p. 8°. 2 Taf. u. 16 Fig. 2 M.

**Kirchner, Oskar**, Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Eine Anleitung zu ihrer Erkennung und Bekämpfung für Landwirte, Gärtner u. a. 2. vollst. umgearb. Aufl. Schlußlief. Stuttgart (Ulmer) 1906. 2 M.

**Lafar, Franz**, Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für techn. Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Landwirte . . . Bd. II: Eumycetengärungen. 2. Drittel. Sonderabdr. a. Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. (p. 539—714). Jena (Fischer) 1906. 8°. 4,40 M.

**Laloy, L.**, Parasitisme et mutualisme dans la nature. Avec préface par A. Giard. Paris 1906. 284 p. 82 Fig. 8°. 5 M.

**Laubert, R.**, Pflanzenschutz in England. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau n. -schutz. Jg. IV. 1906. Heft 8. p. 86—88.)

**N. E.**, Aus der pflanzenpathologischen Versuchsstation zu Geisenheim a. Rh. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 139—142.)

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Rörig, G.,** Tierwelt und Landwirtschaft. Des Landwirtes Freunde und Feinde unter den freilebenden Tieren. Stuttgart 1906. 418 p. 459 Fig. u. 5 Taf. 10 M.

Wandtafeln, pflanzenpathologische. Eine Sammlung kolorierter Tafeln für den Unterricht. Hrsg. von Carl v. Tubeuf. Stuttgart (Ulmer) 1906. Taf. 1: Die Mistel, von C. v. Tubeuf. 101 × 80,5 cm. 4 M.

**Sorauer, P.,** Pflanzenkrankheiten (aus Just's bot. Jahresbericht). Jg. XXXII. 1904. Berlin 1906. 113 p. 8°. 9 M.

**Wichmann, H.,** Spezialbericht der biologischen Abteilung (d. österr. Versuchsstation f. Brau- u. Malzindustrie). Wasser, Hefe, Faßgeläger, Preßhefe, Hopfen, Bier. (Jahresber. d. Vereines Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brau- u. Malzindustrie in Wien. 1905. p. 14—18, ersch. 1906.

**Williams, H. U.,** Manual of bacteriology. 4. edition, enlarged and revised by B. M. Bolton. Philadelphia 1905. 357 p. 8°. M. Fig. 8,50 M.

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Achard, Ch.** et **Aynaud, M.,** Sur les conditions histo-chimiques de l'imprégnation par l'argent. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 25. p. 43—44.)

**Balássy, D.,** Zur Glimmertechnik. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII. 1906. Heft 1. p. 12—14.)

**Barbagallo, Pietro,** Sulla pretesa coltivazione delle amebe parassite. (Gazz. ospedali e clin. Anno XXVII. 1906. N. 36. p. 380—381.)

**Bender, O.,** Ein einfacher Beleuchtungsapparat für Lupenpräparation und Mikroskopie. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII. 1906. Heft 1. p. 35—38. 2 Fig.)

**Bonney, Victor,** Eine neue und leicht auszuführende dreifache Färbung für Zellen und Gewebsschnitte nach Flemmings Dreifachbehandlung. (Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXXV (Folge 18. Bd. V) 1906. Heft 2. p. 359—361. 1 Taf.)

**Bouet, G.,** Culture du trypanosome de la grenouille (Trypanosoma rotatorium). (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XX. 1906. N. 7. p. 565—577. 1 Taf. u. 11 Fig.)

**Brandeis, R.,** Sur un procédé de coloration des coups histologiques par l'azorubine alunée. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 14. p. 710—712.)

**Braun, A.,** Le rouge neutre et le diagnostic rapide de la souillure des eaux de boisson par le colibacille. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année IV. 1906. N. 13. p. 561—567.)

**Bulloch, W.** and **Craw, J. A.,** On a new porcelain filter. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 3. p. 408—420. 4 Fig.)

**Curtis, F.,** Un nouveau colorant nucléaire: la safranine base. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 21. p. 983—984.)

**Ehrlich, F.,** Ueber eine Methode zur Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe. Biochem. Ztschr. T. I. 1906. p. 8—31.)

**Gaidukov, N.,** Die neuen Zeißschen Mikroskope. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII. 1906. Heft 1. p. 59—67. 4 Fig.)

**Gaidukov, N.,** Ueber die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über die Ultramikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 667—672., 9 Fig.)

**Grimm Viktor,** Versuche über das Absterben von Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung und in Milch bei Kochen unter erniedrigtem Druck. Diss. med. Berlin, 1906. 8°.

**Guéguen, F.,** Sur le sudan et l'joide lactiques et sur leur emploi dans les colorations combinées. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 18. p. 851—853.)

**Guéguen, F.,** Chevalet permettant d'observer au microscope les tubes de culture. (Compt. rend. soc. biol. T. XXVII. 1906. N. 27. p. 229—230. 1 Fig.)

**Heim, L.,** Eine neue Methode zum schärferen Nachweis der Verunreinigungen von Abwasser, Flußwasser und Trinkwasser. (Verh. Dtschr Nat. u. Aerzte. 77. Vers. Meran 1905. T. II. Med. Abt. p. 463—465.)

—, Einfachstes Bakterienfilter. (Verh. Dtschr. Nat. u. Aerzte. 77. Vers. Meran 1905. T. II. Med. Abt. p. 465—467.)

—, Ueber Asbestfilter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft. p. 52—54.)

**Köck, G.,** Ein neuer Hefetriebkraftapparat. (Vorl. Mitt.) (Ztschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. IX. 1906. Heft 7. p. 801—805. 6 Fig.)

**Kraus, Alfred,** Eine Aufklebemethode für Paraffin- und Celloidinserien, sowie für Hautschuppen. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXX. 1906. Heft 2. p. 261—266.)

**Küppers, L.,** Sterilisier- und Desinfizierapparat für Aerzte und Laien. (Med. Klinik. Jg. II. 1906. N. 23. p. 596—598. 9 Fig.)

**Lecouppey de la Forest,** Les filtres à sable de la Compagnie des eaux de la banlieue de Paris à Nanterre. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVIII. 1906. N. 7. p. 560—577. 1 Taf.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**les Doux, Charles,** Ueber entomologische Lupen. (Entomol. Ztschr. Jg. XIX. 1906. N. 29. p. 166.)

**Locher, Franz,** Ueber die Wirkung einiger photodynamischen Substanzen auf Hefe, Azetondauerhefe und Hefepreßsaft. Diss. med. München, 1905. 8°.

**Loeffler, F.,** Zur Gramschen Färbungsmethode. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 31. p. 1243—1244.)

**MacNeal, Ward J.,** A note on methylene violet as one of the nuclear dyes in the Romanowsky stain. (American Journ. of Anat. Vol. V. N. 2, S. VI--VII. [Proc. Americ. Anat.].)

**MacNeal, Ward J.,** Methylene violet and methylene azure. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1906. N. 3. p. 412—433. 2 Fig.)

**Nichols, J.** and **Schmitter, Ferdinand,** A simple way of using Buchners method for the cultivation of anaërobic bacteria. (Journ. of med. Research. Vol. XV. 1906. N. 1. p. 113—116. 1 Taf.)

**Ori, Alessandro,** Sulla coltura degli anaerobii. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 13. p. 397—407.)

**Ország, Oscar,** Ein einfaches Verfahren zur Färbung der Sporen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 3. p. 397—400.)

**Pohlmann, Augustus Grote,** Ein neues Projektionszeichenbrett. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII. 1906. Heft 1. p. 41—44.)

**Portier, P.** et **Richard, J.,** Sur une méthode de prélèvement de l'eau de mer destinée aux études bactériologiques. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 20. p. 1109—1111. 4 Fig.)

**Reuschel, Fritz,** Die einfachste Methode der Anaërobenzüchtung in flüssigem Nährboden. (München. med. Wchnschr. Jg. LIII. 1906. N. 25. p. 1208—1209.)

**Rosenthal, Georges,** Culture aérobie du bacille d'achalme (Bacillus perfringens): la mensuration de l'anaérobiose. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 17. p. 828—829.)

**Sachs-Mücke,** Ein einfacher Apparat zur Wiederauffindung bestimmter Stellen in mikroskopischen Präparaten. (München. med. Wchnschr. Jg. LIII. 1906. N. 26. p. 1258—1259.)

**Thévenot, Lucien,** Cultures des bacilles acido-résistants sur milieux végétaux et sur milieux sucrés. (Compt. rend. Soc. biol. T. LXI. 1906. N. 27. p. 223—224.)

**Tischutkin, N. P.,** Beschreibung eines Apparates für gleichzeitige Bearbeitung vieler mikroskopischer Schnitte und über Anwendung desselben für Bearbeitung feiner histologischer Objekte (Embryonen, Eier etc.). (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII. 1906. Heft 1. p. 44—58. 1 Fig.)

**Vastarini-Cresi, G.,** Contributo alla tecnica delle sezioni microscopiche di oggetti inclusi in paraffina. (Monit. Zool. Ital. Anno XVII. 1906. N. 5. p. 162—166. 2 Fig.)

**Viereck,** Die Romanowskyfärbung nach May. (München. med. Wchnschr. Jg. LIII. 1906. N. 29. p. 1414—1415.)

**Wittneben, Wilh.,** Untersuchungsergebnisse bei dem Vergleich eines neuen Filters mit dem Berkefeldfilter. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 16. p. 869—886.)

**Zieler, Karl,** Zur Darstellung der Leukocytenkörnelungen sowie der Zellstrukturen und Bakterien im Gewebe. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XVII. 1906. N. 11. p. 433—436.)

## Systematik, Morphologie.

**Achalme, Pierre** et **Rosenthal, Georges,** Le bacillus gracilis ethylicus, microbe anaérobie de l'estomac, produit la fermentation alcoolique du lait. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 22. p. 1025—1027.)

**Bienstock,** Bacillus putrificus. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XX. 1906. N. 5. p. 407—415.)

**Billet, A.,** Protozoaires dans le bouton du Nil. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 24. p. 1149—1151.)

**Blanchard, R.,** Spirilles, Spirochètes et autres microorganismes à corps spiralé. (Arch. de parasitol. T. X. 1906. N. 2. p. 129—149.)

**Brocqu-Rousseu** et **Piettre,** Sur les spores d'un Streptothrix. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 22. p. 1221—1223.)

**Christophers, S. R.,** The anatomy and histology of ticks. (Scientific Mem. by officers of the med. and sanitary Depart. of the Government of India. New Ser. N. 23. Calcutta 1906. 4°. 6 Taf.) 4 s. 6 d.

**Dietel, P.,** Beschreibungen einiger neuer Uredineen. (Ann. Mycologici. Vol. IV. 1906. N. 4. p. 303—308.)

**Dietel, P.,** Einige Bemerkungen über die Rostpilzflora Australiens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 733—736.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Dodd, F. P.** and **Bingham, Charles T.,** Notes upon some remarkable parasitic insects from North-Queensland. (Trans. entomol. soc. London 1906. P. 1. p. 119—124.)

**Dugès, A., Herrera, A. L.,** El vampiro de la tierra caliente. (Comision de parasitol. agricola. Circular N. 34. Mexico 1906. 9 p. 1 Taf. 1,50 M.

**Froggatt, Walter W.,** Domestic insects: cockroaches (Blattidae). (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVII. 1906. P. 5. p. 440—447. 1 Taf.)

**Fuhrmann, Franz,** Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 629—639; N. 22/23. p. 697—702.)

**Fuhrmann, O.,** Die Hymenolepis-Arten der Vögel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 3. p. 352—358; Heft 4. p. 440—450. 39 Fig.)

**Greig-Smith, R.,** A pleomorphic slime bacterium (Bacillus alatus n. sp.) (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales f. the year 1905. Part 4. Sydney 1906. p. 570—573. 1 Taf.)

**Guilliermond, A.,** A propos de l'origine des levures. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 21. p. 975—977.)

**Guilliermond, A.,** Contribution à l'étude cytologique des bactéries. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 23. p. 1285—1287.)

**Henneberg, W.,** Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien. Beschreibung fünf neuer Essigbakterien und des B. xylinum. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 22. p. 257—272. 28 Photogr. u. 9 Fig.)

—, Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 23. p. 277—280. 3 Fig.)

—, Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 24. p. 289—291; N. 25. p. 305—307.)

—, Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 26. p. 321—323; N. 27. p. 337—339; N. 28. p. 353—356.)

**Hertzog, N. J.,** Die Rebschädlinge. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIV. 1906. N. 19. p. 438—439.)

**Klugkist, C. E.,** Discomyceten, Elaphomyceten und Gasteromyceten aus Nordwestdeutschland. (Abh. hrsg. v. Natur. Ver. Bremen. Bd. XVIII. 1906. Heft 2. p. 376—383.)

**Kunstler, J.** et **Gineste, Ch.,** Structure fibrillaire chez les Bacteriacées. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIII. 1906. N. 1. p. 84—87. 6 Fig.)

**Kunstler, J.** et **Gineste, Ch.,** Spirillum periplaneticum nov. spec. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 135. 1 Fig.)

**Lecaillon,** Die Blutlaus (Aphis papaveris Fab.). (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIII. 1906. N. 8. p. 116. [Bull. soc. nat. d'agric.])

**Le Dantec, A.,** La microbe du rouge de morue. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 136—138.)

—, Note sur une nouvelle catégorie de microbes; les microbes chloruophiles. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 139—140.)

**Léger, Louis,** Sur une nouvelle Myxosporidie de la Tanche commune. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 20. p. 1097—1098.)

**Lemmermann, E.,** Die Pilze der Juncaceen. (Abh. hrsg. v. naturw. Ver. Bremen. Bd. XVIII. 1906. Heft 2. p. 464—489.)

**Lucks, R.,** Eine neue Milbenart in Futtermitteln. (Die Landw. Versuchs-Stat. Bd. LXIV. 1906. Heft 5. p. 477—480. 3 Fig.)

**Maire, René,** Notes mycologiques. (Ann. Mycologici. Vol. IV. 1906. N. 4. p. 329—335. 1 Fig.)

**Matsumara, S.,** Monographie der Cercopiden Japans. (Journ. of the Sapporo agric. College. Sapporo, Japan. Vol. II. 1903. P. 1. p. 15—52. 22 Fig.)

**Matsumura, S.** und **Shiraki, T.,** Monographie der Forficuliden Japans. (Journ. of the Sapporo agric. College. Sapporo. Japan. Vol. II. 1905. P. 2. p. 75—86. 3 Fig.)

**Mayr, Gustav,** Neue Feigeninsekten (Hymenopteren). (Wiener entomol. Ztg. Jg. XXV. 1906. Heft 5/7. p. 153—187.)

**Massa, Donato,** Materiali per una revisione del genere Trochopus. (Archiv. Zool. Vol. III. 1906. Fasc. 1. p. 43—71. 2 Taf.)

**Meissner, R.,** Untersuchungen über eine auf schwedischen Heidelbeeren gefundene Saccharomyces-Art. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angewandten Bot. Jg. III. 1904/05. Berlin 1906. p. 44—62. 7 Fig.)

**Mercier, L.,** Un organisme à forme levure parasite de la blatte (Periplaneta orientalis L.). Levure et Nosema. (Compt. rend. soc. biol. T. XL. 1906. N. 23. p. 1081—1083.)

—, Sur une Microsporidie du Talitre. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 90—91.)

**Nikisima, Y.,** On some Japanese species of the Scolytini. (Journ. of the Sapporo agric. Coll. Sapporo. Japan. Vol. II. 1905. P. 2. p. 67—74. 1 Taf.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Rick**, Fungi austro-americani. Fasc. 3 u. 4. (Ann. Mycologici. Vol. IV. 1906. N. 4. p. 309—312.)

**Rothenbach, F.**, Zur Systematik der Essigbakterien. (D. dtsche Essigind. Jg. X. 1906. N. 24. p. 193—195.)

**Rytz, Walter**, Beiträge zur Kenntnis der Gattung Synchytrium. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 511—512.)

**Salmon, Ernest S.**, On Oidiopsis taurica (Lev.), an endophytic member of the Erysiphaceae. (Ann. of botany. Vol. XX. 1906. N. 78. p. 187—200. 2 Taf.)

**Schouteden, H.**, Notes on Ceylonese Aphides. (Spolia Zeylanica. Part 8. 1905. [Vol. II. P. 4.] 1 Taf.)

**Swellengrebel, N. H.**, Zur Kenntnis der Cytologie von Bacillus maximus buccalis (Miller). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 617—628; N. 22/23. p. 673—681. 1 Taf.)

**Sydow, H.** et **P.**, Novae fungorum species. III. (Ann. Mycologici. Vol. IV. 1906. N. 4. p. 343—345.)

**Takahashi, T.**, A new variety of Mycoderma yeast as a cause of a sake disease. (Bull. of the College of agric. Tokyo. Vol. VII. 1906. N. 1. p. 101—104. 1 Taf. u. 1 Fig.)

**Tavares, J. da Silva**, Descripçao de uma cecidomyia nova do Brazil, parteniente a um genero novo. (Broteria. IV. 1906. p. 81—84.)

**Trägårdh, Ivar**, Acariden aus Aegypten und dem Sudan. Teil I. (Results of the Swedish Zool. Expedit. to Egypt and the White Nile 1901. Part. 2. 1905. 1—124. 6 Taf. u. 2 Fig.)

## Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Alcoholic fermentation in cider. (Journ. of the Board of agric. Vol. XIII. 1906. N. 4. p. 241—246. 4 Fig.)

**Bach, A.**, Einfluß der Peroxydase auf die Tätigkeit der Katalase. (Ber. d. dtschen chem. Ges. 1906. N. 7.)

**Bach, A.**, Ueber das Schicksal der Hefenkatalase bei der zellfreien alkoholischen Gärung. (Ber. d. dtschen chem. Ges. 1906. N. 7.)

—, Einfluß der Peroxydase auf die alkoholische Gärung. (Ber. d. dtschen chem. Ges. 1906. N. 7.)

**Berghaus**, Die Säuerung des Nährbodens durch Bakterien und ihr Nachweis mittels Harnsäure. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 11. p. 573—577.)

**Bargmann**, Die Miniergänge der Borkenkäfer, ihre biologische Bedeutung. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 7. p. 310—328.)

**Beck**, Ueber einen Fruchtäther bildenden Micrococcus (Micrococcus esterificans). (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. 1906. Heft 2. p. 256—263.)

**Behn**, Die Denitrifikation. Uebersicht über die Entwickelung und den gegenwärtigen Stand der Denitrifikationsfrage. Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angewandten Bot. Jg. III. 1904/1905. Berlin 1906. p. 137—165.)

**Beijerinck, M. W.**, Une sarcine de fermentation anaérobie obligatoire. (Arch. néerland. d. sc. exactes et nat. Sér. 2. T. XI. 1906. Livr. 3. p. 199—205.)

**Bergtheil, C.**, The study of fermentation as applied to agriculture. (Agric. Journ. of India. Vol. I. 1906. P. 1. p. 68—75; P. 3. p. 230—236. 1 Taf.)

**Bettges, W.**, Zur Sarcinafrage. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 25. p. 311—312.)

**Bokorny, Th.**, Notiz über die Giftigkeit einiger Anilinfarben und andere Farbstoffe. (Chemiker-Ztg. Jg. XXX. 1906. N. 30. p. 217.)

**Bouchard, Ch.** et **Balthazard**, Action de l'émanation du radium sur les bactéries chromogènes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 14. p. 819—823. 6 Fig.)

**Cercelet, M.**, Les traitements tardifs aux sels de cuivre. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 651. p. 615—617.)

**Cernovodeanu, P.** et **Henri, Victor**, Determination du signe électrique de quelques microbes pathogènes. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 27. p. 200—201.)

**Ciaccio, Carmelo**, Sur la mucinase. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 14. p. 675—676.)

—, Sur l'entérokinase. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 14. p. 676—677.)

**Claussen, N. Hjelte**, Anläßlich der neuesten Sarcinaarbeit. Berichtigende und ergänzende Bemerkungen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 23. p. 339—342.)

**Courmont, Paul**, Influence de la glycérine sur le pouvoir chromogène des bacilles acidorésistants. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 27. p. 221—223.)

**Delanoë**, Note sur la biologie de Bacillus prodigiosus. Influence de la température sur la végétation et sur le pouvoir chromogène. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 14. p. 674—675.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Dewitz, J.,** Der Einfluß der Wärme auf Insektenlarven. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. Heft 1/2. p. 40—53.)

**Eggers,** Zur Verbreitung und Lebensweise einiger europäischer Borkenkäfer. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 7. p. 281—290.)

**Ehrlich, Felix,** Ueber das Verhalten racemischer Aminosäuren gegen Hefe. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschen Zuckerindustrie. Lief. 608. 1906, p. 840—860.)

**Eijkman, C.,** Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 3. p. 367—369.)

**Elion, H.,** Eine zwanzigjährige Erfahrung in der fabrikmäßigen Herstellung von Reinhefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVIII. 1906. N. 35. p. 453—454.)

**Evans, J. B. Pole,** Infection phenomena in various Uredineae. (Rep. British Assoc. for the Advanc. of sc. South Africa 1905. London 1906. p. 595—596.)

**Foulerton, Alexander G. R.** and **Kellas, Alexander M.,** The action on bacteria of electrical discharges of high potential and rapid frequency. (Proc. of the R. Soc. Ser. B. Vol. LXXVIII. Biol. Sc. 1906. N. B 522. p. 60—87.)

**Fränkel, Siegmund** und **Hamburg, Max,** Ueber Diastase. Erste Mitteilung. Versuche zur Herstellung von Reindiastase und deren Eigenschaften. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 35. p. 405—410. [Beitr. z. chem. Physiol. Bd. VIII. 1906. Heft 8/10.)

**Fuchs, Gilbert,** Nachtrag zur ersten Veröffentlichung über die Borkenkäfer Kärntens. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 7. p. 291—301. 9 Fig.)

**Guillon, J. M.,** Recherches sur le developpement de Botrytis cinerea cause de la pourriture grise des raisins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 24. p. 1346—1349.)

**Hausmann, Walter,** Zur Kenntnis der von Schimmelpilzen gebildeten gasförmigen Arsenverbindungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIII. 1906. Heft 3. p. 509—511.)

**Hayduck, F.,** Ueber die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 29. p. 371—374.)

**Henneberg, W.,** Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Kartoffelsorten gegen Fäulnisbakterien. (Landw. Centralbl. f. d. Prov. Posen. Jg. XXXIV. 1906. N. 18. p. 196—197.)

**Herter,** The production of methylmercaptan by fecal bacteria grown on a peptone medium. Journ. biol. chemistry. T. I. 1906. p. 421—424.)

**Herter** et **Ward,** On gas production by fecal bacteria grown on sugar bouillon. (Journ. biol. chemistry. T. I. 1906. p. 415—419.)

**Hofmann, W.,** Parasitische Flechten auf Endocarpon miniatum (L.) Ach. (Beitr. z. wiss. Bot. Bd. V. 1906. Abt. II. p. 259—274.)

**Jacobsen, H. C.,** Ueber einen richtenden Einfluß beim Wachstum gewisser Bakterien in Gelatine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. Heft 1/2. p. 53—64. 1 Taf. u. 8 Fig.)

**Jaquemin, W. H.,** Verfahren und Apparate zur Herstellung von Alkohol aus stärkehaltigen Materialien zur Verzuckerung mit Hilfe von Schimmelpilzen und zur Gärung mit Hefen. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 25. p. 231. [La sucr. indig. et colon. 1906. N. 22. p. 621])

**Jensen, Orla,** Ueber den Einfluß des Nachwärmens auf die Emmentalerkäse. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XX. 1906. Heft 2. p. 154—156.)

**Kaserer, Hermann,** Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 22/23. p. 681—696. 2 Fig.)

—, Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 25. p. 769—775. 2 Fig.)

**Klebahn, H.,** Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. Heft 2. p. 65—82.)

**Kleine, F. K.,** Kultivierungsversuche der Hundepiroplasmen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIV. 1906. Heft 1. p. 10—16. 2 Taf.)

**Kniep, Hans,** Untersuchungen über die Chemotaxis von Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIII. 1906. Heft 2. p. 215—270.)

**Kossowicz, Alexander,** Ueber den Einfluß von Mycoderma auf die Vermehrung und Gärung der Hefen. 1. Mitt. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. IX. 1906. Heft 5. p. 688—694.)

**Loew, O.** and **Aso, K.,** Some catalytic actions of Platinum black. (Bull. of the College of agric. Tokyo. Vol. VII. 1906. N. 1. p. 1—6.)

**MacNaught, J. C.,** The duration of vitality of B. coli communis in various waters, and in sewage. (Journ. of the R. army med. corps. T. V. 1905. N. 1. p. 95—105.)

**Marshall, C. R.** and **Neave, E. F. Macleod,** The bactericidal action of compounds of silver. (British med. Journ. 1906. N. 2381. p. 359—363.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Massee, G.**, Origin of parasitism in Fungi. (Philos. Trans. of the R. Soc. Ser. B. Biol. Pap. Vol. CXCVII. 1905.)

—, A fungus parasitic on a moss. (Torreya. Vol. VI. 1906. p. 48—50.)

**Maurizio, A.**, Die Gärung des Mehlteiges. Zusammenfassende Uebersicht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 17/19. p. 513—524.)

**Miehe, Hugo**, Betrachtungen über die Standorte der Mikroorganismen in der Natur, speziell über die der Krankheitserreger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 430—437.)

**Miehe, Hugo**, Wo können pathogene Mikroorganismen in der freien Natur wachsen? (Med. Klinik. Jg. II. 1906. N. 36. p. 943—944.)

**Mohr**, Zur Frage der enzymatischen Essigsäuregärung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 29. p. 374—375.)

**Mohr**, Die Oxydationsvorgänge in der lebenden Zelle. (Schluß.) VIII. Neue Untersuchungen über die Katalase. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVIII. 1906. N. 35. p. 447—450.)

**Nathan, Leopold** und **Schmid, Arthur**, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. 4. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 482—488. 1 Fig.)

**Nathan, Leopold** und **Fuchs, Willy**, Ueber die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 21. p. 312—320. 58 Fig.)

**Neide, E.**, Ueber Bakterien und deren zuckerzerstörende Wirkung in der Diffusionsbatterie. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn Zuckerind. Lief. 607. 1906. p. 726—736.)

**Oebius, R.**, Ueber spontane Wachstumshemmung der Bakterien auf künstlichen Nährböden. (Med. Klinik. Jg. II. 1906. N. 23. p. 598—601.)

**Papasotiriou, J.**, Einige Beobachtungen über den Einfluß von Bakterien auf Pepsin. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 4. p. 269—272.)

**Péju, G.** et **Rajat, H.**, Vue d'ensemble sur l'action de l'iodure de potassium, facteur de polymorphisme chez les bactéries. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 27. p. 225—227.)

**Potter, M. C.**, Bacteria as agents in the oxidation of amorphous carbon. (Rep. British Assoc. for the Advanc. of sc. South Africa 1905. — London 1906. p. 594—595.)

**Pringsheim, Hans**, Ueber ein Stickstoff assimilierendes Clostridium. [1. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 25. p. 795—800.)

**Rahn, Otto**, Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 417—429.)

—, Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 609—617.)

**Regensburger, Paul**, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 438—481. 2 Taf.)

—, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 41. p. 430—433.)

**Rheinboldt, M.**, Zur bakteriziden Wirkung der Mineralquellen. (Arb. a. d. pathol. Inst. Berlin, hrsg. v. Orth z. Feier d. Vollendg. d. Inst.-Neubauten. Berlin 1906. p. 556—560. 1 Taf.)

**Rosenthal, Georges**, Méthode de transformation progressive des microbes aérobies stricts en anaérobies facultatifs. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 25. p. 48—49.)

—, Adaptation à la vie aërobie du bacille gracile éthylogène, microbe anaérobie strict de l'estomac. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 24. p. 1116 1118.)

**Rothenbach, F.**, Fortzüchtung von Reinzucht-Essigbakterien und ihre Uebertragung in den Betrieb. (D. dtsche Essigind. Jg. X. 1906. N. 20. p. 162—163; N. 21. p. 169—170.)

**Rubner, Max**, Die Beziehungen zwischen Bakterienwachstum und Konzentration der Nahrung (Stickstoff- und Schwefelumsatz). (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 3. p. 161—192.)

—, Energieumsatz im Leben einiger Spaltpilze. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 3. p. 193—243.)

**Ruhland, W.**, Ueber Arabinbildung durch Bakterien und deren Beziehung zum Gummi der Amygdaleen. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft 7. p. 393—401.)

**Russ, Viktor K.**, Einiges über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 2. p. 341—360.)

**Salmon, E. S.**, Cultural experiments with biologic forms of the Erysiphaceae. (Philos. Trans. of the R. Soc. Ser. B. Biol. Pap. Vol. CXCVII. 1905.)

**Sartory, A.**, Étude d'une levure nouvelle le „Cryptococcus salmoneus". (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 18. p. 850—851.)

**Sartory, A.**, Étude d'une levure nouvelle „Le Creptococcus bainieri". (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 27. p. 216—217.)

**Silvestri, F.**, Contribuzioni alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. 1. Biologia

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

del Litomastix truncatellus (Dalm.). 2. note prel. Portici 1906. 51 p. M. Taf. u. 13 Fig. (Ann. Sc. sup. Agric.) 6 M.

**Speschnev, N.,** Besondere Myceliumform von Plasmopara viticola. Neuer Parasit der Pfirsichblätter. (Moniteur du Jardin botanique de Tiflis. Année 1906. Livr. 2/3.)

**Stoklasa, Julius,** Ueber die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobacter und Radiobacter. (Ztschr. d. Vereins d. Dtschen Zuckerindustrie. Lief. 608. 1906. p. 815—825.)

—, Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure im Boden. (Ztschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. IX. 1906. Heft 8. p. 844—853.)

—, Treten Stickstoffresultate im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 1/2. p. 27—33.)

**Stockhausen, Ferdinand,** Oekologie, „Anhäufungen" nach Beijerinck. 2. Teil. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVII. 1906. N. 22. p. 273—275; N. 23. p. 281—284; N. 24. p. 293—296; N. 25. p. 307—311 N. 26. p. 323—326; N. 27. p. 342—346; N. 28. p. 356—359; N. 29. p. 368—371; N. 30. p. 386—390.)

**Tubeuf,** Ueber die Vertikalverbreitung der Trametes Pini und ihr Vorkommen an verschiedenen Holzarten. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 7. p. 328.)

**Wund, Martin,** Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender, sporenbildender Bakterienspecies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. p. 97—101. 4 Fig.)

**Zellner, Julius,** Ueber das Fett spaltende Ferment der höheren Pilze. (Monatsh. f. Chem. Bd. XXVII. 1906. p. 295—304.)

**Zimmermann,** Ergänzende Versuche zur Feststellung der Keimfähigkeit älterer Sklerotien von Claviceps purpurea. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 129—131.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft, Wasser, Boden.

**Dawson, A. Willan,** The supply of drinking water in India and its connection with the subsoil water. (Indian med. Gaz. Vol. XLI. 1906. N. 8. p. 307—309.)

**Fowler, C. E. P.,** On the value of copper as a means of purifying drinking water. (Journ. of the R. army med. corps. T. V. 1906. N. 3. p. 391—396.)

**Frassi, Alfredo,** Osservazioni circa la flora batterica del sottosuolo. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1905. N. 14. p. 431—448.)

**Gredig, Eugen,** Beiträge zur Nitrifikation und Nitratzersetzung im Neckarwasser und die Bakterienflora des Neckars zu verschiedenen Jahreszeiten. Diss. med. Heidelberg, 1906. 8⁰.

**Grijns, G.,** Bacteriologisch onderzoek van de drinkwaterketels in het Gymnasium Willem III. (Geneesk. tijdschr. von Nederl.-Indie. Deel XLV. 1906. Afl. 3. p. 294—295.)

**Grosse-Bohle, H.,** Prüfung und Beurteilung des Reinheitszustandes der Gewässer. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XII. 1906. Heft 1/2. p. 53—60.)

**Heinze, Berthold,** Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 640—653; N. 22/23. p. 703—711.)

**Hoffmann, V.,** Ueber den Einfluß hohen Kohlensäuredrucks auf Bakterien im Wasser und in der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 4. p. 379—400.)

**Jackson, R. W. H.,** The drinking-water supplies to Garrison towns in the South of Ireland, and drinking-water analyses. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 9. p. 543—550.)

**Kirchner, W. C.,** Bacteriological examination of river water. Trans. of the Acad. of sc. of St. Louis. Vol. XV. 1905. N. 3. 34 p. 3 Fig. 2 M.

**Lacomme, L.** et **Lancelot,** Le sulfate de cuivro comme agent stérilisateur des eaux de boisson. (Lyon méd. Année XXXVIII. 1906. N. 30. p. 203—204.)

**Lambert, Gabriel,** De l'épuration des eaux de boisson. Nouveau procédé chimique purification totale et rapide des eaux destinées à l'alimentation. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVIII. 1906. N. 7. p. 578—593.)

**Le Couppey de la Forest,** La filtration des eaux destinées à l'alimentation publique. (L'hyg. gén. et appliquée. Année I. 1906. N. 8. p. 459—470.)

**Moreno, J. M.,** Contribucion à la flora bacteriana de las aguas potables de la villa de Madrid. Mem. Soc. Hist. nat. T. III. Madrid 1904—1906. 88 p. 8⁰. 4 M.

Ueber künstliches Eis. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 31. p. 361—363. [Ztschr. f. d. ges. Kohlensäureind. 1906. N. 12.])

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Nahrungsmittel im Allgemeinen.

**Borchmann, K.,** Beiträge zur Marktkontrolle der animalischen Nahrungsmittel. Begutachtung von Büchsenkonserven. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 9. p. 289—294.)

**Bigelow, W. D.,** Foods and food control. VI. VII, VIII. Laws of Ohio, Oklahoma, Oregon, Pennsylvania, and the Philippine Islands. Porto Rico . . . . (U. S. Depart. of agric. Bureau of chemistry-Bull. N. 69. P. 6. p. 459—548; P. 7. p. 549—637; P. 8. p. 639—704.)

**Bigelow, W. D.** and **Howard, Burton, J.,** Some forms of food adulteration and simple methods for their detection. (U. S. Depart. of agric. Bureau of chemistry. Bull. N. 100. 1906. 59 p.)

**Cathcart, E. P.,** The bacterial flora of „blown" tins of preserved foot. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 3. p. 248—250.)

**C. O.,** Ueber das Verderben von Konserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. No. 34. p. 455—456.)

**Eccles, R. G.,** Dic Bedeutung der Konservierungsmittel für die menschliche Ernährung in wirtschaftlicher und hygienischer Hinsicht. In deutscher Bearbeitg. hrsg. v. Bunde dtsch. Nahrungsmittel-Fabrikanten u. -Händler. Heidelberg, Winter 1906. XI, 172 p. 8°. 4,50 M.

**Matthes, H.,** Ueber die Verwendung der Salicylsäure als Konservierungsmittel. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 31. p. 412—413.)

**Saito, K.,** Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. Heft 1/2. p. 20—27. 5 Taf.)

**Schulz, Arthur,** Der quantitative Nachweis von Eiweißsubstanzen mit Hilfe der Präzipitinreaktion und seine Anwendung bei der Nahrungsmittelkontrolle. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 26. p. 1032—1037.)

**von Wahl, C.,** Ueber Verderber von Gemüsekonserven. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XVI. 1906. N. 14/16. p. 489—511.)

**Walbaum, Herm.,** Die Gesundheitsschädlichkeit der schwefligen Säure und ihrer Verbindungen unter besonderer Berücksichtigung der freien schwefligen Säure. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 2. p. 87—144.)

## Fleisch.

**Bühler, R.,** Die Fleischbeschau der Schweiz, mit besonderer Berücksichtigung ihrer geschichtlichen Entwickelung. Teufen 1906. 147 p. 8°. 2,50 M.

**Jacobsen, Adolf,** Verfälschungen des Fleisches und der Fleischprodukte und die zu deren Nachweisen dienenden neueren Untersuchungsmethoden. Kristiania (Cammermeyer) 1906. 54 p. 8°. 1,70 M.

**Konstansoff, S. W.,** Ueber das Wesen des Fleischgiftes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. N. 17/18. p. 542—557.)

**Haefcke,** Die modernen Fleischsterilisatoren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 11. p. 374—378.)

**Hladík, Jaroslav,** Ist frisch geschlagenes Ochsenfleisch genießbar und der Gesundheit zuträglich? (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXIV. 1906. Heft 1. p. 130—146.)

**Trautmann, H.,** Fleischvergiftung und Paratyphus. (Berlin. klin. Wchnschr. Jg. XLIII. 1906. N. 33. p. 1102—1104.)

## Milch, Molkerei.

**Amberg, S.,** A method for the determination of hydrogen peroxyde in milk together with some observations on the preservation of milk by this substance. (Journ. of biol. chemistry. T. I. 1906. p. 219—228.)

**Bandini, P.,** Die Wirksamkeit des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 3. p. 379—386; Heft 4. p. 474—480.)

**Barthel,** Contribution à la connaissance de la répartition des ferments lactiques en dehors du lait. (Rev. gén. du lait. 1906. N. 10/12.)

**Bergmann, Arvid, M.** und **Hultman, Carl,** Bericht über einige Versuche natürlich tuberkulöse Milch durch Buddisierung zu sterilisieren. (Fortschr. d. Veterinär-Hyg. Jg. IV. 1906. Heft 5. p. 97—100.)

**Cathcart, E. P.,** Upon the reduction of methylene blue by cow's milk. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 3. p. 300—303.)

**Dammann,** Die Gewinnung hygienisch einwandfreier Milch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 37. p. 436—437. [Hannoversche Land- u. Forstw.-Ztg. 1906. p. 851.)

**Fortescue-Brickdale, J. M.,** The influence of milk supply on infant mortality. (Journ. of the R. Sanitary Instit. Vol. XXVII. 1906. N. 8. p. 413—419.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Fuchs,** Die Butter und ihre Bedeutung im Welthandel. (Fortschr. d. Veterinär-Hyg. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 26—36.)
**Gruber, Theo,** Die beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungserreger in der Milch. Gruppe des Bacillus coli und des Bacterium aërogenes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 654—663; N. 22/23. p. 711—719.)
**Happich, C.,** Läßt sich bakterienfreie Butter bereiten? (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. No. 35. p. 412—413.)
**Hempel, Walter,** Ueber die Gewinnung einwandfreier Milch für Säuglinge, Kinder und Kranke. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIV. 1906. Heft 1/3. p. 121—128. 4 Fig.)
**Kayser, Heinrich,** Milch und Typhusbacillenträger. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. 1906. Heft 1. p. 173—175.)
**Katayama, T.,** A condensed vegetable milk. (Bull. of the College of agric. Tokyo. Vol. VII. 1906. N. 1. p. 113—115.)
**Macconkey, Alfred,** A contribution to the bacteriology of milk. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 3. p. 385—407.)
**Marcas, L.** et **Huyge, C.,** Conservation du lait jusqu'à l'écrémage. (Rev. gén. du lait. T. V. 1906. p. 313—318.)
**Plehn,** Einwandfreie Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 23. p. 265—267.)
**Reitz, Adolf,** Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 25. p. 776—794. 1 Taf. u. 15 Kurven.)
**Reitz, Adolf,** Bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 1. p. 1—28.)
—, Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 719—733. 1 Taf.)
—, Milchhygiene und Bakteriologie. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 11. p. 378—382.)
**Rey, J. G.,** Marktmilch, Kindermilch, Säuglingssterblichkeit. Kongreßberichte. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXV. 1906. Heft 5/6. p. 242—253.)
**Rogers, Lore A.,** The bacteria of pasteurized and unpasteurized milk under laboratory conditions. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 73. Washington 1905. 32 p.)
**Rubner, Max,** Ueber spontane Wärmebildung in Kuhmilch und die Milchsäuregärung (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 3. p. 244—268.)
**Teichert, Kurt,** Ueber Yoghourt, eine fermentierte Milch als Jungbrunnen des Lebens. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 31. p. 362—363.)
**Thom, Charles,** Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry-Bull. N. 82. 1906. 39 p. 3 Fig.)
**Vieth, P.,** Aus dem Bericht über die Tätigkeit des milchwirtschaftlichen Instituts Hameln im Jahre 1905. [Forts.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 22. p. 255—255; N. 23. p. 267—268.)
**Voigt, Albert,** Die Milchsterilisierung in ihrer gesundheitlichen und praktischen Ausführung. Diss. med. Leipzig 1906. $8^0$.

## Wein, Weinbereitung.

**Berner, G.,** Ueber die Ursachen des Krankwerdens der Weine. Württemberg. (Wchnbl. f. Landw. 1906. N. 26. p. 475—476.)
**Delle, Ed.,** L'acide sulfureux et les bisulfites. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 43. p. 170.)
**Despeissis, A.,** Wine diseases. (Journ. of agric. Western Australia. Vol. XIII. 1906. Part 3. p. 234—238.)
Fermentation de la vendange sulfitée. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 65. p. 258.)
**Goldschmidt, Fritz,** Der Wein von der Rebe bis zum Konsum, nebst einer Beschreibung der Weine aller Länder. 4. verb. u. verm. Aufl. Mainz (Diemer) 1906. XV, 607 p. $8^0$. 12 M.
**Hamm, A.,** Ueber die sogenannte Bräune des Rotweins. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 2. p. 380—392.)
**Haas, Bruno,** Desinfizierung und Desodorierung verschimmelter Weinfässer mittelst Formaldehyd. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 30. p. 295.)
**Kayser, E.** et **Manceau, S.,** Sur la graisse des vins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIII. 1906. N. 4. p. 247—248.)
**Lacroix, Marcel,** Pasteurisation des vins en bouteilles. — Préparation d'un vin bourru. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 68. p. 270.)
**Lindner, P.,** Einiges über den Weinbukettschimmel (Sachsia suaveolens). (D. dtsche Essigind. Jg. X. 1906. N. 23. p. 185—187. 3 Fig.)
**Müller-Thurgau, H.,** Ueber den Einfluß der schwefligen Säure auf Entwickelung und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Haltbarkeit der Obstweine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 1/2. p. 11—19.)

**Pacottet, P.,** L'acide sulfureux liquide en vinification. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. T. XXVI. N. 661. p. 173—177.)

**Reisch, R.** und **Trummer, J.,** Ueber die chemische Zusammensetzung der verschiedenen beim Pressen gewonnenen Mostpartien und der daraus hervorgegangenen Weine. [Schluß.] (Die Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 35. p. 413—416.)

**Seifert, W.,** Ueber den Einfluß der Mostgewinnung, Gärung und Behandlung des Jungweines auf die Beschaffenheit desselben. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 32. p. 377 380; N. 33. p. 389—394.)

**Thomas, G.,** La dimension des vaisseaux de fermentation. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 43. p. 170.)

—, Les vins amers. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 45. p. 178.)

—, L'aération des mouts. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 58. p. 230.)

—, La réfrigération des mouts. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 59. p. 234.)

—, Le levurage de la vendange. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 66. p. 261—262.)

—, Fermentation de la vendange égrappée. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 71. p. 282.)

—, La température de fermentation. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 72. p. 286.)

## Bier, Bierbereitung.

**Bettges, W.,** Zur Sarcinafrage. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 28. p. 403. [Erwidg. v. H. Will, ib. p. 403].)

**Bleisch,** Moderne Gärbottiche. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 35. p. 473—475.)

**Claussen, Hjelte,** Beobachtungen betreffend das Vorkommen der Bierpediokokken. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 28. p. 397—400.)

**Heinzelmann, R.,** Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. [Schluß.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 22. p. 265—267. 130 Fig.)

**Janka, F.,** Schieferbottiche als neuere Gärgefäße. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 29. p. 333. [Brauer- u. Mälzer-Ztg. 1906. N. 6).]

**Keil, H.,** Die im Juni 1906 untersuchten Biere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVIII. 1906. N. 35. p. 451—453.)

**Rüffer, Ernst,** Amerikanisches Sud- und Gärungsverfahren. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 26. p. 333—334.)

**Wichmann, Heinrich,** Moderne Gärbottiche. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 31. p. 357—361.)

**Will, H.,** Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. 3. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 1/2. p. 1—7. 3 Taf. u. 14 Fig.)

## Andere Nahrungsmittel.

**Belli, C. M.,** Contributo allo studio batteriologico del pane e del biscotto. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVIII. 1906. N. 6. p. 264—277.)

**Bode, G.,** Alkoholfreie Getränke. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 28. p. 359—362.)

**Dieudonné,** Ursachen der Fleisch- und Kartoffelvergiftungen. ) (Verh. Dtscher Nat. u. Aerzte. 77. Vers. Meran 1905. T. II. Med. Abt. p. 433—434.)

**Rolly,** Ueber eine Massenvergiftungsepidemie mit Bohnengemüse. (Bact. coli and Bact. paratyphi B.) (Münch. med. Wchnschr. Jg. LIII. 1906. N. 37. p. 1798—1801.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

**Beck, M.,** Zur Frage der Desinfektion von Eß- und Trinkgeschirren. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 8. p. 853—857.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

**Calmette, A.,** Valeur comparée de l'épuration biologique. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVIII. 1906. N. 6. p. 459—476.)

**Cao, Giuseppe,** Contributo alla pratica delle desinfezioni con i vapori d'alcool. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXVIII. 1906. N. 4. p. 150—167. 2 Fig.)

—. Contributo alla pratica delle disinfezioni con i vapori d'alcool. [Schluß.] Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVIII. 1906. N. 5. p. 193—205. 4 Fig.)

**Chapin, C. V.,** The fetch of disinfection. (Journ. American med. assoc. Vol. XLVII. 1906. N. 8. p. 574—580.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Czaplewski, E.**, Dritter Jahresbericht über die Tätigkeit der amtlichen Desinfektorenschule an der Desinfektionsanstalt der Stadt Cöln in dem Betriebsjahre 1905. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege. Jg. XXV. 1906. Heft 5/6. p. 230—233.)

**Frassi, Alfredo**, Osservazioni circa la flora batterica del sottosuolo. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 15. p. 467—480.)

**Galli-Valerio, Bruno**, Ueber die desinfizierende Wirkung von Melioform. (Therapeut. Monatshefte. Jg. XX. 1906. Heft 6. p. 281—282.)

**Goebel, W.**, Ueber die desinfizierenden Eigenschaften Lugolscher Jodlösungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 1. p. 86—91.)

—, Ueber die desinfizierenden Eigenschaften Lugolscher Jodlösungen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. p. 176—179.)

: **, W. M. C.**, An experimental investigation as to the potency of various disinfectant against rat-fleas. (Indian med. Gaz. Vol. XLI. 1906. N. 7. p. 289—290.)

**Kajet, A.**, Kritische Betrachtungen über die Zweckmäßigkeit der Verteilungseinrichtungen biologischer Tropfkörperanlagen. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXXVIII. 1906. Heft 3. p. 578—588.)

**Kausch**, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. N. 6/8. p. 161—165; N. 15/16. p. 461—471; N. 17—18. p. 513—534. 28 Fig.)

**Long, J. D.**, Disinfection of ships. (American Medicine. Vol. XI. 1906. N. 9. p. 326—330.)

**Perdrix, L.**, Étude de l'equilibre du système trioxyméthylène-méthanal. Application à l'emploi de l'aldéhyde formique comme agent microbicide. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 65—66.)

—, Action du méthanal sec sur les germes microbiens aux température élevées. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 67—68.)

—, Appareil stérilisateur permettant la désinfection rapide et à sec des objets solides. (Compt. rend. soc. biol. T. LXI. 1906. N. 26. p. 69—70.)

**Pfeiler, Willy**, Zur Kenntnis der Desinfektion infizierten Düngers durch Packung. [Forts.] (Oesterr. Monatsschr. f. Tierheilk. Jg. XXXI. 1906. N. 8. p. 341—347.)

**Purvis, J. E.** and **Coleman, C. J.**, The influence of the Saline constituents of sea-water on the decomposition of sewage. (Journ. of the R. Sanitary Instit. Vol. XXVII. 1906. N. 8. p. 433—441.)

**Roepke**, Kurzer Leitfaden für die Wohnungsdesinfektion. 2. Aufl. Melsungen (Bernecker) 1906. 27 p. 8°. —,50 M.

**Rosenau, M. J.**, Some of the recent aspects of quarantine and its relation to public health. (Journ. of the American med. Assoc. Vol. XLVI. 1906. N. 22. p, 1657—1660.)

**Salomon, Hermann**, Die städtische Abwässerbeseitigung in Deutschland. Wörterbuchartig angeordnete Nachrichten und Beschreibungen städtischer Kanalisations- und Kläranlagen in deutschen Wohnplätzen (Abwässerlexikon). Bd. II. Lief. 1. Das Emsgebiet nebst vorgelagerten Inseln und das Wesergebiet. Jena (Fischer) 1906. 138 p. 11 Taf. u. 11 Fig. 8°. 5 M.

**Schwinning**, Desinfektion und Seuchenvorbeuge. (Landw. Wchnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. VIII. 1906. N. 16. p. 122—124.)

**Strössner, Edmund**, Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Rohlysoforms. (Pester med.-chir. Presse. Jg. XLII. 1906. N. 36. p. 856—860.)

**Teichert, Kurt**, Ueber desinfizierende Wandanstriche in Molkereien. [Schluß.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 31. p. 363—364.)

**Tomarkin, E.**, Ueber einen Desinfektionsversuch vermittelst des Flüggeschen Formaldehydapparates. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 1. p. 83—85.)

—, Ueber einen Desinfektionsversuch vermittelst des Flüggeschen Formaldehydapparates. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. p. 174—176.)

**Wolff-Eisner, Alfred**, Ueber die Desinfektionswirkung eines Formaldehydseifenpräparates „Testoform". (Med. Klinik. Jg. II. 1906. N. 36. p. 941.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

A fungous disease of Lucerne. (Journ. of the board of agric. Vol. XIII. 1906. N. 2. p. 51—52.)

**Appel, O.**, Neuere Untersuchungen über Kartoffel- und Tomatenerkrankungen. (Jahresber. d. Vereinigg. d. angewandten Bot. Jg. III. 1904/05. Berlin 1906. p. 122—136.)

**Arthold, M.**, Der Liebstöckel-Lappenrüßler oder Nascher (Otiorrhynchus ligustici) als Rebenschädling. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 17. p. 194—195.)

**Arthur, J. C.**, New species of Uredineae IV. (Bull. Torr. Bot. Club. XXXIII. 1906. p. 27—34.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Austen, Ernest E.,** A dipterous enemy of English hothouse gropes. (Entomologist's monthly Mag. Ser. 2. Vol. XVI. 1905. p. 276—278.)

**Beijerinck, M. W. et Rant, A.,** Sur l'excitation par traumatisme le parasitisme et l'écoulement gommeux chez les amygdalées. (Arch. néerland. d. sc. exactes et nat. Sér. 2. T. XI. 1906. Livr. 3. p. 184—198.)

**Berlese, A.,** Sopra una nuova specie di Mucedinea parassita del Ceroplastes Rusci. (Redia. Vol. III. 1906. 15 p. 1 Taf. u. 1 Fig.)

**Bolley, H. L.,** Rust problems. Facts, observations and theories; possible means of control. Fargo. N. Dak. (Bull. Agr. Exp. Stat.) 1906. 66 p. 8°. 30 Fig. 2,50 M.

**Bürki,** Der Erbsenblasenfuß. (Schweizer landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. Heft 19. p. 490—491.)

**Butler, E. J.,** The wilt disease of Pigeon pea and pepper (caused by Fungi). Calcutta. Agr. Journ. Ind. 1906. 12 p. 5 Taf. 3 M.

—, The wilt disease of pigeon pea and pepper. Calcutta 1906. 12 p. (Agric. Journ. India. Vol. I. 1906. p. 25—36.)

**C.,** Der Getreidelaufkäfer. (Landw. Wchnbl. f. d. Provinz Sachsen. Jg. VIII. 1906. N. 22. p. 172—173.)

Canker fungus and woolly aphis. (Journ. of the board of agric. Vol. XIII. 1906. N. 2. p. 55.)

**Cercelet, M.,** Les lésions phylloxériques. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 644/646. p. 425—426. 1 Taf.)

**Chauzit, B.,** L'érniose. (Rev. viticult. Année XIII. 1906. N. 650. p. 585.

**Clodius, G.,** Der Pilzkrebs der Apfelbäume und seine Bekämpfung. (D. prakt. Ratgeber i. Obstbau. Jg. XXI. 1906. N. 17. p. 153—156. 7 Fig.)

**Detmann, H.,** Pflanzenkrankheiten in Connecticut. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. Heft 2. p. 100—107.)

—, Beobachtungen über Pflanzenkrankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen in Baden. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 142—144.)

**Duboys, Ch.,** La rouille des céréales, maladie héréditaire. (Rev. Sc. Limousin. T. XIV. 1906. p. 198—202.)

Einige Schädlinge der Haselnußstaude. (Der Obstgarten. Jg. XIV. 1906. N. 5. p. 68—69. 3 Fig.)

**Eriksson, J.,** Ueber die Entstehung und Verbreitung der Rostkrankheiten der Pflanzen. (Arkiv för Bot. Bd. V. 1905. Heft 1/2.)

**Eriksson, Jakob,** Der amerikanische Stachelbeermehltau in Europa, seine jetzige Verbreitung und der Kampf gegen ihn. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. Heft 2. p. 83—90. 2 Taf.)

**F. N.,** Phytopathologische Beobachtungen aus Holland. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1905. Heft 3. p. 144—147.)

**Froggatt, W. W.,** Report on forest-damaging insect, Podacanthus wilkinsoni, in the Glen Innes district. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVII. 1906. P. 5. p. 517.)

**Fuller, Claude,** The fruit fly. (Natal Agric. Journ. Vol. IX. 1906. N. 3. p. 232—234.)

—, The Thuja hedge Aphis. (Natal Agric. Journ. Vol. IX. 1906. N. 3. p. 207—208.)

**Green, E. Ernest,** Entomological notes. Tropical Agriculturist. (Ceylon. N. Ser. Vol. XXVI. 1906. N. 2. p. 177—179. (Heterusia, Gnorimoschema, Orthezia u. a.).]

**Green, Ernest,** Entomological notes. (Tropical-Agricult. N. S. Vol. XXVI. 1906. N. 4. p. 298—301. 1 Taf. [Psychidae.])

**Guillon, J. M.,** Recherches sur le développement et le traitement de la pourriture grise des raisins. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. T. XXVI. 1906. N. 659. p. 117—124; N. 660. p. 149—152; N. 661. p. 181—186. 3 Fig.)

**Güssow, H. T.,** Beitrag zur Kenntnis des Kartoffelgrindes. Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 135—137. 1 Taf.)

**Hart, J. H.,** Rud rot disease in Coconuts. (Bull. misc. inform. bot. Depart. Trinidad. 1906. p. 242—243.)

**Hecke, L.,** Die Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. (Jahresber. d. Vereinigg. d. angewandten Bot. Jg. III. 1904/05. Berlin 1906. p. 63—65.)

**Hedgcock, George G.,** The crown-gall and hairy-root diseases of the apple tree. (U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. 1906. N. 90. p. 15—17. 3 Taf.)

**Herzog, Alois,** Ueber das Vorkommen von Milben auf Leinsamen. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1906. N. 23. p. 179. 1 Fig.)

**Hopkins, A. D.,** The black hills beetle with further notes on its distribution, life history, and methods of control. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomology. Bull. 1906. N. 56. 24 p.)

**Hori, S.,** Smut on cultivated large Bamboo (Phyllostachys). (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 73—89. 4 Taf.)

**Houlé, E.,** Der Rhombenspanner (Boarmia gemmaria) ein Feind des Rebstockes. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVIII. 1906. N. 7. p. 131—132.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Jungner, J. R.**, Ein neuer Getreidepilz. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 131—135. 1 Taf.)

**Kieffer, J. J.**, Neue Weidengallenmücke. (Entomol. Meddelelser. Raekke 2. Bind II. 1906. Hefte 1. p. 1.)

**Kirchner, O.**, Die Obstbaumgespinstmotten. Stuttgart 1906. 4 S. 8°. Mit Fig. 0,20 M.

**Klein, E.**, Le Phylloxéra en Tunisie. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 652. p. 646.)

**Kulisch, Paul**, Was lehrt uns das Auftreten der Peronospora im Jahre 1905, besonders auf den Trauben für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit? (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothr. Jg. XXXIV. 1906. N. 21. p. 485—491.)

**Lavialle, J. B.**, Le châtaignier. Culture; utilisation de ses produits; maladies. Paris 1906. 292 p. 8°. M. Fig. 3 M.

Les progrès du Phylloxéra en Victoria. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 644/646. p. 481—482.)

**Ludwig, F.**, Ueber die Milben der Baumflüsse und das Vorkommen des Hericia Robini Canestrini in Deutschland. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 137—139.)

**Malkoff, Konstantin**, Weitere Untersuchungen über die Bakterienkrankheiten auf Sesamum orientale. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 20/21. p. 664—666. 4 Taf.)

**Markant, A.**, Einige Bemerkungen zu dem Auftreten von Botrytis cinerea. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 32. p. 380.)

**Marlatt, C. L.** and **Orton, W. A.**, The control of the codling moth and apple scab. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1906. N. 247. 21 p. 9 Fig.)

**Müller-Thurgau**, Die Milbenkrankheit der Reben (Verzwergung. Kräuselkrankheit, Court-noué). (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 17. p. 195—198. [Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau.].)

—, Die Milbenkrankheit der Reben (Verzwergung, Kräuselkrankheit, Court-noué). (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 16. p. 157—158. [Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau].)

**Noack, F.**, Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVI. 1906. Heft 2. p. 90—100.)

**Peters, Leo**, Zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft 6. p. 323—329.)

**Rick, J.**, Pilze aus Rio Grande do Sul. (Broteria. Vol. V. 1906. Fasc. 1/2. 6 Taf.)

**Sanderson, E. D.**, Report on miscellaneous cotton insects in Texas. Washington. (Bull. Dep. Agric.) 1906. 63 p. 8°. 1 Taf. u. 33 Fig. 1,50 M.

**Sanderson, E. Dwight**, Report on miscellaneous cotton insects in Texas. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomology. Bull. 1996. N. 57. 63 p. 32 Fig.)

**Schiff-Giorgini, R.**, Ricerche sulla tuberculosi dell' ulivo. Roma 1905. 25 p. 2 Taf. 4°. (Mem. Accad. Lincei.) 4,50 M.

**Schröder, Chr.**, Bericht über die während des Jahres 1905 zur Einsendung gebrachten Schädlinge. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LVI. 1906. N. 22. p. 312—315.)

**Scott, W. M.**, The control of apple bitter-rot. (U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. 1906. N. 93. 33 p. 8 Taf.)

**Seitner, M.**, Resseliella piceae, die Tannensamen-Gallmücke. (Verh. d. k. k. Zool.-Bot. Ges. Wien. Jg. LVI. 1906. p. 174—186.)

**Solla, R.**, Auftreten schädlicher Pilze in Italien. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVI. 1906. Heft 3. p. 147—149.)

**Steglich**, Organisation des Pflanzenschutzdienstes im Königreich Sachsen. (Sächs. landw. Ztschr. 1906. N. 24. p. 581—585.)

**Stoklasa, Julius**, Wurzelbrand und Zuckerrübe. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIII. 1906. N. 13. p. 193—198.)

**Strohmeyer**, Neue Untersuchungen über Biologie. Schädlichkeit und Vorkommen von Eichenkäfers, Platypus cylindrus var.? cylindriformis Reitter. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. IV. 1906. Heft 8. p. 329—341. 3 Fig.)

The insect pests Amendment Act, 1898. (Journ. of agric. Western Australia. Vol. XIII. 1906. Part 3. p. 209—214.)

The tortrix pest. (Tropical Agricult. N. S. Vol. XXVI. 1906. N. 4. p. 301—308.)

**Theobald, Fred V.**, Economic entomology (Crambus trisectus u. u.). (Nature. Vol. LXXIV. 1906. N. 1911. p. 160—161. 2 Fig.)

Tree root rot (Armillaria mellea Vahl.) (Journ. of the board of agric. Vol. XIII. 1906. N. 2. p. 111—114. 1 Fig.)

**Trotter, A.** e **Cecconi, G.**, Cecidotheca Italica, o raccolta di Galle Italiane determinate preparate ed illustrate. Fasc. 13/15. Avellino 1906. 75 Specie disseccate (n. 301—375) con testo. 4°.

**Vosseler, J.**, Ein Feind des Mwulebaums. (Der Pflanzer. Jg. II. 1906. N. 4. p. 57—63.)

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Vosseler, J.,** Die bunte Stinkschrecke. (Der Pflanzer. Jg. II. 1906. N. 5. p. 65—68.)
—, Ein Schädling von Ficus elastica Roxb. (Der Pflanzer. Jg. II. 1906. N. 5. p. 72—74.)
**Wibmer, B.,** Ueber Erkrankungen und Beschädigungen der Obstgewächse und Gemüse. [Schluß.] (Der Obstgarten. Jg. XIV. 1906. N. 5. p. 66—68.)
**Wright, H.,** Cacao disease in Ceylon. (Bull. misc. inform. Bot. Depart. Trinidad. 1906. p. 1—4.)
**Wüst,** Ueber das Auftreten der Weidenrosengallmücke Cecidomyia rosaria Lw. in der Südpfalz. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau. Jg. IV. 1906. Heft 5. p. 49—51. 1 Fig.)
**Zimmermann, C.,** Anatomia da Cecidia produzida pelo Trigonaspis Mendeni na Quercus lusitanica. (Broteria. Vol. V. 1906. Fasc. 1/2. 2 Taf.)

## Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

**Arthold, M.,** Wieder neue Reblausvertilgungsmittel. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 18. p. 205—206.)
**Behrens, J.,** Neue und alte Mittel gegen die Blattfallkrankheit der Reben. (Weinblatt. Jg. IV. 1906. N. 22. p. 87—88.)
**Boudeville, G.,** Le dégrèvement des vignes phylloxerées. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 59. p. 234.)
**Börner, Karl,** Die Blutlausfrage und ihre Bekämpfung. (Wchnbl. d. landw. Ver. im Großh. Baden. 1906. N. 20. p. 304—306.)
**Buhlert,** Ueber Pflanzenschädlinge und deren Bekämpfung. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. XI. 1906. N. 19. p. 123—124.)
**C. R.,** La defense contre la grêle en 1905. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 644/646. p. 475—476.)
Der beste Blattlausvertilger. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. Heft 19. p. 487—488.)
Der Kampf gegen den falschen Mehltau. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. Heft 20. p. 510—512.)
**Die Holder**sche fahrbare Rebenspritze. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 23. p. 227. 1 Fig.)
**Gardner, J.** et **King, W.,** The germicidal action of potassium permanganate. (American chem. Journ. T. XXXV. 1906. N. 2. p. 144—147.)
**Gescher, Kl.,** Neuer Wegweiser zur Schädlingsbekämpfung. Trier (Lintz) 1906. 11 p. 8°. —,20 M.
**Guiraud, D.,** Lutte contre la cochylis. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 62. p. 246.)
**Hugounenq, L.,** Traitements combinés centre l'oïdium et le mildiou. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 644/646. p. 429—432.)
**Hiltner,** Bericht über vergleichende Versuche betr. die Wirkung von Dufourscher Lösung, Markasol und „Baumschutz", nebst einigen Allgemeinen Bemerkungen über die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. IV. 1906. Heft 5. p. 52—56; Heft 6. p. 66—69.)
**Hunter, W. D.,** Medios para combatir el Picudo del Algodon. Comision de parasitol. agricola. Mexico 1906. Circular N. 32. 48 p. 9 Fig. 1,50 M.
**Köck, G.,** Einiges über Chlorosebekämpfung der Obstbäume. (Der Obstgarten. Jg. XIV. 1906. N. 5. p. 65—66.)
**Langenbeck, E.,** Anleitung zur Ausübung des Pflanzenschutzes zum Selbstunterricht und für landwirtschaftliche Schulen bearbeitet. Berlin (Parey) 1906. 77 S. 27 Fig. 8°. 1 M.
**Lüstner, Gustav,** Erkennung und Bekämpfung der Blattfallkrankheit der Reben (Peronospora-Krankheit, falscher Mehltau). (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVIII. 1906. N. 2. p. 137—138. 3 Fig.)
**Marès, Roger,** Les bouillies arsenicales et la lutte contre les altises. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 644/646. p. 426—429.)
**Muth, Franz,** Zur Bekämpfung der Peronospora. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 31. p. 284—285.)
**Perrier de la Bathie,** Traitement de la pourriture grise. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 648. p. 519—521.)
**Raebiger, H.** und **Schwinning, G.,** Versuche mit Rattin, einem neuen Ratten tötenden Bacillus. (Mitt. d. Dtschen landw. Ges. 1906. N. 18. p. 193—194.)
**Rebtreu, Weinhold,** Tod dem falschen Mehltau (Peronospora viticola) und dem Rotbrenner! Oder: Ob und wie man dieselben ausrotten könnte? Liestal, Lüdin, 1906. III, 62 p. —,60 M.
**Schiller-Tietz,** Die Vertilgung tierischer Pflanzenschädlinge durch das Hausgeflügel. (Landw. Centralbl. f. d. Prov. Posen. Jg. XXXIV. 1906. N. 25. p. 278—279.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Skalický, B.**, Beobachtungen über die Bekämpfung der Peronospora in Krain. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 19. p. 185—187. 1 Fig.)
**Thiele, H.** und **Wolf, Kurt**, Ueber die Abtötung von Bakterien durch Luft. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. 1906. Heft 1. p. 29—55. 3 Taf.)
Traitement du black rot. (Rev. de viticult. Année XLIII. 1906. N. 647. p. 509—511.)
**Volkmer**, Die Nonne (Liparis monacha). Lebensweise, Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßregeln. (Landw. Wehnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. VIII. 1906. N. 21. p. 162—163.)
**Wiesenthal**, Ueber chemische Mittel zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen. (Landw. Annalen d. mecklenb. patr. Ver. 1906. N. 19. p. 173—176.)
Zur Bekämpfung der Peronospora und Oidium. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 20. p. 229—230.)
Zur Naturgeschichte und Bekämpfung einiger tierischer Obstschädlinge. (Obstgarten. 1906. N. 6. p. 83—84.)

# Inhalt.

**Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

**v. Freudenreich, Ed.** und **Jensen, Orla**, Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung, p. 225.

**Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Annual Report of the Imperial Department of Agriculture for the year 1904—05, p. 234.

**Referate.**

**Banks**, The principal insects injurious to the coconut-palm, p. 291.
**Baur, Erwin**, Ueber die infektiöse Chlorose der Malvaceen, p. 270.
**Bergtheil**, The study of fermentation as applied to agriculture, p. 259.
**Briem, H.** und **Strohmer, F.**, Beobachtungen über normale uud abnormale Stengelbildung bei Schoßrüben und Untersuchungen über die Wanderung des Zuckers in der Rübe, p. 275.
**Buller, A. H. R.**, The reactions of the fruitbodies of Lentinus lepideus Fr. to external stimuli, p. 290.
**Chrétien, P.**, Les chenilles des Santolines, p. 293.
**Criddle**, The fly agaric and how it affects the cattle, p. 294.
**Dawson**, Der Mechanismus der Enzym- und Fermentwirkung, p. 240.
**Fischer, Alfred**, Ueber Plasmoptyse der Bakterien, p. 237.
**Fischer, Hugo**, Ueber Giftpilze und ihre Gifte, p. 238.
**Gabotto, L.**, Di un ifomicete parassita della vite, p. 289.
**Gorini**, Ricerche batteriologiche sul formaggio Gorgonzola, p. 257.
**Harden** and **Young**, The alcoholic ferment of Yeast-Juice, p. 251.
**Haselhoff** und **Bredemann**, Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien, p. 267.
**Hecke, L.**, Die Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung, p. 273.
**Heinze, Berthold**, Sind Pilze im stande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? p. 266.
**Hempel, Walther**, Ueber die Gewinnung einwandsfreier Milch für Säuglinge, Kinder und Kranke, p. 255.
**Hesse**, Untersuchungen von Wässern, die für Molkereizwecke bestimmt sind, p. 256.
**Hollrung**, Einige Bemerkungen über das Wachstum der Zuckerrüben während des Jahres 1905, p. 276.
**Jamieson**, Utilisation of nitrogen in air by plants, p. 261.
**Istvánffi, Gy. de**, Études microbiologiques et mycologiques sur le rot gris de la vigne (Botrytis cinerea — Sclerotinia Fuckeliana), p. 280.
**Kambersky**, Ueber den Einfluß der Nährstoffsalzimprägnierung auf die Keimung der Samen, p. 268.
**Kayser, F.** und **Manceau, E.**, Sur la maladie de la Graise des vins, p. 253.
**Kayser**, Les microbes du sol, p. 261.
**Kienitz**, Kampf gegen den Kiefernbaumschwamm, p. 290.
**Knotek**, Zweiggallen von Phytoptus pini Nalepa an der Weißkiefer, p. 291.
**Koch, A.**, Bodenbakteriologische Forschungen u. ihre praktische Bedeutung, p. 262.
**Köck**, Ergebnis mit der Issleibschen Nährsalzimprägnation, p. 269.
**König, J.**, Einige neue Eigenschaften des Ackerbodens, p. 260.
**Kossowicz, Alexander**, Die Zersetzung des französischen Senfs durch Bakterien, p. 258.
**Köstler**, Ueber die chemische Zusammensetzung der Molke und der Käsemasse während der eigentlichen Fabrikation des Emmentalerkäses, p. 255.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Kunze**, Ueber Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung, p. 259.
**Lafar**, Handbuch der technischen Mykologie. 5. u. 6. Forts., p. 241.
**Ludwig**, Die Aepfel und die Wohnungsmilben, p. 294.
**Maxwell-Lefroy, H.**, The insect pests of cotton in India, p. 293.
**McAlpine, D.**, A new genus of Uredineae-Uromycladium, p. 272.
**Mewes**, Der Kiefernspinner in Schweden 1903 und 1904, p. 294.
**Meyer, Arthur**, Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien, p. 237.
**Osterwalder**, Die Sklerotienkrankheit bei den Forsythien, p. 277.
**Pantanelli, E.**, Ricerche sul turgore delle cellule di lievito, p. 239.
**Pée-Laby, E.**, La Passiflore parasite sur les racines du Fusain, p. 291.
**Peglion, Vitt.**, Moria di piantoni di gelso cagionata da „Gibberella moricola" (De Not.) Sacc., p. 279.
**Peglioni, Vitt.**, Interno al un caso di emiparasitismo del Rhacodium cellare Pers., p. 250.
**Perotti, R.**, Distribuzioni dell' Azotobacterio in Italia, p. 264.
**Pfister**, Die Gewinnung von Preßhefe alter Methode ohne Verwendung von Schlempe oder Schwefelsäure, p. 250.
**Politzer, Arnold**, Der Leuconostoc mesenterioides in der Melassebrennerei, p. 258.
**Reissinger**, Die Verwendung des Grünfäuleholzes, p. 272.
**Savage**, The coagulation of milk by Bacillus coli communis, p. 255.
**Schorstein, Josef**, Zerstören die Pilze das Xylan? Bemerkungen zum 6. Hefte des III. Bandes der technischen Mykologie von Dr. Franz Lafar, p. 271.
—, Förderung der Luftmycelbildung auf der Oberfläche verpilzter Hölzer durch Behandlung mit Formaldehyd, p. 270.
**Schouteden, H.**, Un nouvel ennemi du Cacaoyer en Afrique, p. 293.
**Stoklasa, J.**, Ueber die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobacter und Radiobacter, p. 262.
**v. Tubeuf, Karl Freih.**, Zur Abwehr der Angriffe von Ingenieur Schorstein, p. 272.
**v. Tubeuf**, Hexenbesen an Pinus Strobus, p. 291.
**Tschermak, Erich**, Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und Gerste und das Auftreten von Mutterkorn, p. 274.
**Uyeda**, Bacillus nicotianae, spec. nov., die Ursache der Tabakwelkkrankheit oder Schwarzbeinigkeit in Japan, p. 278.
**Vestergren, T.**, Monographie der auf der Leguminosengattung Bauhinia vorkommenden Uromyces-Arten, p. 274.
**Vuillemin, P.**, Recherches sur les champignons parasites des feuilles de Tilleul (Cercospora, Phyllosticta, Helminthosporium), p. 290.
**Wortmann, Julius**, Die wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft, p. 252.
**Zach, Franz**, Ueber Erineum Tiliaceum, p. 291.

### Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Battige, A.**, Abwasserdesinfektion. Ein Beitrag zur Frage der Desinfektionseinrichtungen bei Abwasserreinigungsanlagen, p. 298.
**Braun**, Der Stand der biologischen Abwasserreinigung, p. 298.
**Busse, Walter**, Ueber Aufgaben des Pflanzenschutzes in den Kolonieen, p. 301.
**Devarda**, Die Görzer Prünellenindustrie mit besonderer Rücksichtnahme auf das „Schwefeln" des Obstes, p. 301.
**Erlwein, G.**, Einzelanlagen zur Sterilisation von Trinkwasser durch Ozon, p. 297.
**Hetsch**, Ueber den heutigen Stand der Frage der Trinkwassersterilisation durch Chemikalien, p. 296.
**Howard-Jones, J.**, Cupper-sulfate-treatment of reservoirs, p. 298.
**Kornauth, Karl**, Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen Pflanzenschutzstation in Wien über das Jahr 1905, p. 300.
**Kühle**, Die Anwendung von geschältem und desinfiziertem Rübensamen, p. 302.
**Magerstein, Vinz. Th.**, Laktoformol, ein neues Antiseptikum in der Brennerei, p. 299.
**Rella, Attilio**, Das biologische Reinigungsverfahren, p. 295.
**Vieth**, Die Verfahren zur Frischhaltung der Milch, p. 299.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Slaus-Kantschieder, J.**, Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Spalato über das Jahr 1905, p. 303.

**Neue Litteratur**, p. 304.

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 11|13.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

**Mit 7 Textfiguren und 4 Tafeln.**

**(Fortsetzung.)**

Wenn sich die hygroskopische Eigenschaft der Kolonieen einwandsfrei nachweisen ließe, würde eine sehr gute Erklärung für die Herkunft des die Bewegung ermöglichenden Wassers gefunden sein. Ich versuchte den Beweis in folgender Weise zu erbringen: Zwei gleichgroße Fließpapierstreifen (ca. 3,5:10 cm) wurden in besonderer Weise geknickt und in große Petri-Schalen von 15 cm Durchmesser gelegt, wie es folgende Figur im Durchschnitt zeigt:

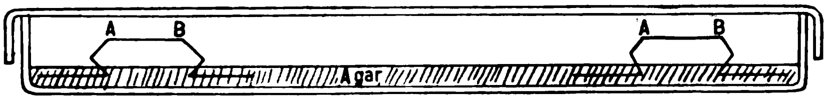



Fig. 5.

Darauf wurde in die sterilisierten Schalen vorsichtig Agar gegossen und dieser nach dem Erstarren nur in der Nähe des einen Streifens geimpft. Nachdem die Kolonie gewachsen war, wurde der aus dem Agar herausragende Teil (A—B) beider Papierstreifen abgeschnitten, gewogen, getrocknet und wieder gewogen.

Da die früheren Versuche gezeigt hatten, daß 1,25-proz. Agar am wenigsten Wasser auspreßt und infolgedessen die regelmäßigsten Kolonieen gibt, wurde Agar dieser Konzentration für diese Versuche angewendet.

Die Kolonieen entwickelten sich nicht alle unter denselben Nebenumständen, da sie entweder im Laboratorium bald frei, bald unter einer großen Glasglocke aufgestellt wurden. Die Temperatur in den verschiedenen Versuchen schwankte, je nachdem die Kulturen im Zimmer bei 18—23° oder im Brutschrank bei 30° aufgestellt waren.

(Siehe Tabelle p. 322.)

Die Verschiedenheiten, welche die Versuchsreihen 1—4, 21—25 und 5—20 in dem Wassergehalt der Streifen aufweisen, wurden wahrscheinlich durch die Beschaffenheit des Fließpapieres veranlaßt, da das bei den ersten und letzten Versuchen angewendete Papier viel dicker und steifer als das der mittleren Versuche war. Während die Zahlen für die älteren Kolonieen der Annahme, daß Wasseranziehung durch die Kolonieen stattfindet, widersprechen, stimmen die Zahlen für die jungen Kolonieen gut mit der Theorie überein. Man kann sich vorstellen, daß



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hygroskopizität der Kolonieen.

| Geprüfter Organismus | Alter der Kolonieen | Wassergehalt des Papierstreifens in Proz. des trockenen Streifens berechnet | | |
|---|---|---|---|---|
| | | A. Mit Kolonie | B. Ohne Kolonie | Differenz zwischen A u. B |
| 1) Bact. coli | $9^1/_2$ Stunden | 110 | 83 | +27 |
| 2) „ „ | 15 „ | 122 | 100 | +22 |
| 3) „ „ | ? | 72 | 49 | +23 |
| 4) „ „ | 24 „ | 85 | 58 | +27 |
| 5) „ „ | 15 „ | 129 | 124 | + 5 |
| 6) „ „ | 15 „ | 123 | 117 | + 6 |
| 7) „ „ | 16 „ | 188 | 171 | +17 |
| 8) „ „ | 16 „ | 163 | 157 | + 6 |
| 9) „ „ | 16 „ | 158 | 126 | +32 |
| 10) „ „ | 18 „ | 128 | 131 | — 3 |
| 11) „ „ | 20 „ | 144 | 144 | — |
| 12) „ „ | 20 „ | 159 | 155 | + 4 |
| 13) „ „ | 24 „ | 158 | 168 | —10 |
| 14) „ „ | 24 „ | 156 | 162 | — 6 |
| 15) „ „ | 24 „ | 205 | 171 | +34 |
| 16) „ „ | 24 „ | 194 | 166 | +32 |
| 17) „ „ | 24 „ | 192 | 155 | +37 |
| 18) Bac. fluoresc. liquefaciens | 16 „ | 189 | 179 | +10 |
| 19) „ „ „ | 16 „ | 172 | 161 | +11 |
| 20) „ „ „ | 16 „ | 171 | 138 | +33 |
| 21) „ typhi murium | 24 „ | 84 | 89 | — 5 |
| 22) „ subtilis | 32 „ | 41 | 58 | —19 |
| 23) „ „ | 34 „ | 73 | 80 | — 7 |
| 24) „ II aus Distel | 28 „ | 41 | 36 | + 5 |
| 25) Oidium lactis | 34 „ | 63 | 65 | — 2 |

im 1. Wachstumsstadium sehr viel Wasser angesammelt wird, daß das vom Fließpapier aufgesogene Wasser wieder zurück in die Kolonie gelangt und daß sich bei weiterem Wachstum der Wassergehalt des über der Kolonie liegenden Papierstreifens schneller vermindert als der des anderen. Hiernach wäre auch zu verstehen, daß der Kontrollstreifen schließlich wasserreicher werden kann als der erstere.

Wie schon vorhin erwähnt wurde, konnte ich in vielen Fällen eine Bewegung der Bakterien auf festen Nährböden beobachten. Da die Bewegung am stärksten auf den weniger konzentrierten oder wasserreicheren Nährböden war, versuchte ich, den Zusammenhang zwischen Beweglichkeit bezw. Dauer der Beweglichkeit und Konzentration des Nährbodens zu ermitteln.

(Siehe Tabelle p. 323.)

Die Methode, die ich dabei befolgte, erwies sich als recht brauchbar. Ich bestimmte von 24 zu 24 Stunden das Gewicht der Schalen und untersuchte, ob sich die Bakterien noch bewegten. Als ich keine Bewegung mehr wahrnahm, berechnete ich die Konzentration, welche der Agar bis dahin angenommen hatte.

Die Beweglichkeit scheint bei einer ganz bestimmten, für jeden Organismus spezifischen Konzentration des Agars aufzuhören.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Ergebnisse der Versuche. Man erkennt nebenbei, daß auch hier der konzentriertere Agar unter

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-google

Verlust der Schalenkulturen an Wasser.
Organismus: Bac. megatherium.

| | 0,75-proz. Agar | | | | | | 1,0-proz. Agar | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mit Kolonie | | | Ohne Kolonie | | | Mit Kolonie | | | Ohne Kolonie | | |
| | Proz. Verlust pro Tag | Proz. Gesamtverlust | Bewegung der Bakterien | Proz. Verlust pro Tag | Proz. Gesamtverlust | Bewegung der Bakterien | Proz. Verlust pro Tag | Proz. Gesamtverlust | Bewegung der Bakterien | Proz. Verlust pro Tag | Proz. Gesamtverlust | Bewegung der Bakterien |
| Nach 24 Std. | 5,32 | 5,32 | + | 4,00 | 4,00 | — | 5,65 | 5,65 | — | 4,32 | 4,32 | — |
| „ 41 „ | 3,68 | 9,00 | + | 3,33 | 7,33 | — | 4,48 | 10,13 | + | 3,18 | 7,50 | — |
| „ 65 „ | 5,11 | 14,11 | + | 3,84 | 11,17 | — | 5,55 | 15,68 | + | 3,52 | 11,02 | — |
| „ 89 „ | 4,64 | 18,75 | + | 3,40 | 14,57 | — | 5,22 | 20,90 | + | 3,71 | 14,73 | — |
| „ 113 „ | 3,60 | 23,35 | + | 2,00 | 16,57 | — | 3,46 | 24,36 | —[2]) | 2,24 | 16,97 | — |
| „ 137 „ | 4,63 | 26,98 | + | 2,73 | 19,30 | — | 5,10 | 29,46 | — | 3,30 | 20,27 | — |
| „ 166 „ | 5,74 | 32,72 | + | 4,16 | 23,46 | — | 6,79 | 36,25 | — | 5,36 | 25,63 | — |
| „ 195 „ | 5,00 | 37,72 | + | 4,68 | 28,14 | — | 6,85 | 43,10 | — | 5,90 | 31,53 | — |
| „ 219 „ | 5,90 | 43,62 | + | 3,00 | 31,14 | — | 5,00 | 48,10 | — | 2,20 | 33,73 | — |
| „ 243 „ | 3,42 | 47,04 | —[1]) | 4,36 | 35,50 | — | 4,00 | 52,10 | — | 3,42 | 37,13 | — |

sonst gleichen Umständen mehr Wasser verlor, als der weniger konzentrierte.

| Organismus | Dauer der Beweglichkeit | Anfangskonzentration | Endkonzentration |
|---|---|---|---|
| 1) Bac. I (aus der Proteus-Gruppe) | 11 Tage | 0,75 Proz. | 1,5 Proz. |
| 2) „ I | 10 „ | 0,75 „ | 1,4 „ |
| 3) „ I | 8 „ | 1,00 „ | 1,4 „ |
| 4) „ megatherium | 11 „ | 0,75 „ | 1,3 „ |
| 5) „ „ | 6 „ | 1,00 „ | 1,3 „ |
| 6) „ subtilis | 8 „ | 1,00 „ | 1,3 „ |
| 7) „ coli | ? | 1,00 „ | 1,9 „ |
| 8) „ lactis albus | 12 „ | 1,00 „ | 1,9 „ |
| 9) Sp. volutans | 19 „ | 1,00 „ | 2,0 „ |
| 10) Bac. II | 16 „ | 1,00 „ | 2,2 „ |

Die Uebereinstimmung bei Parallelversuchen ist in Anbetracht der vielen Fehlerquellen eine sehr gute. Dafür, daß sich auf normalen Agarnährböden alle beweglichen Bakterien tatsächlich bewegen, spricht auch die Form ihrer Strichkulturen. Von ca. 400 verschiedenen Bakterien, die in Migulas „System der Bakterien“ beschrieben sind, zeigen fast alle beweglichen Organismen eine „breite, nicht charakteristische Auflagerung“, die unbeweglichen einen „schmalen Streifen“.

Von der Bewegung auf der Agaroberfläche ist die Bewegung der Bakterien durch die Agarmasse hindurch wohl prinzipiell verschieden. Ich verweise hier auf die Versuche, die schon oben erwähnt wurden (siehe Fig. 2).

Wie ich schon gezeigt habe, erklärt sich die Anwesenheit von Wasser an der Agaroberfläche in doppelter Weise:

1) Konzentration des Agars: 1,34 Proz.
2) Konzentration des Agars: 1,32 Proz.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1) dadurch, daß Wasser durch Zusammenziehung des Nährbodens ausgepreßt wird;

2) aus der hygroskopischen Eigenschaft der Bakterienkolonieen.

Es wurde auch schon früher darauf aufmerksam gemacht, daß je nach der Konzentration des Agars das Wasser in verschiedener Form auftritt: nämlich bei verdünntem Agar in gleichmäßiger dünner Schicht und bei konzentriertem Agar in Tropfenform. Man versteht daher leicht, daß sich Bakterien, die in den Bereich des Wassers gelangen, sehr schnell vermehren, und daß sich die Form der Kolonieen der Form der Wasseransammlung anpaßt.

In dieser Weise bestimmt sich im allgemeinen die Form der „Schwimmkolonieen". Man erhält in dem einen Fall eine unregelmäßig geformte und in dem anderen eine kreisrunde Kolonie. Auch nachdem die Kolonie ihre der Verteilung des Wassers entsprechende Form angenommen hat, bewegen sich die Bakterien in den verschiedenen Teilen der Kolonie noch einige Tage lang.

Ob auf die Bewegung die vielverzweigten Formen zurückzuführen sind, wie sie z. B. Fig. 4 und 5, Taf. I zeigen, ist nicht sicher, aber möglich.

Sehr wahrscheinlich sind es noch andere Ursachen, die hier in Betracht kommen, wie Differenzen in der Lebensenergie in verschiedenen Teilen der Kolonieen, Oberflächenspannung und stellenweise Anhäufung von Stoffwechselprodukten in der Kolonie und solche, die oft unregelmäßige Formen mit Ausbuchtungen verursachen.

Wenn verdünnter Agar älter und infolge hiervon konzentrierter wird, treten an den Randpartieen der auf ihm befindlichen Kolonieen kleine radial angeordnete Auswüchse auf, durch welche die Ränder der Kolonie den Rändern einer auf konzentriertem Nährboden gewachsenen Kolonie ähnlich werden.

Zuweilen sieht man an Plattenkulturen und sehr häufig an Strichkulturen in der nächsten Umgebung einer Kolonie eine andere, größere Kolonie oder Anhäufung von Bakterien oder eine große Anzahl kleiner selbständiger Kolonieen, die gar nicht mit der Mutterkolonie verbunden sind. Sie sind vermutlich durch das Fortschwimmen einzelner Bakterienzellen, in einer Wasserschicht und Auswachsen nach dem Verdunsten des Wassers entstanden. Auf Plattenkulturen beweglicher Bakterien findet man alle möglichen Uebergangsformen zwischen Schwimmkolonieen und solchen mit Tochterkolonieen.

Ueber andere Entstehung von Tochterkolonieen vergl. auch Abschnitt 3a und 10.

### 8. Einfluß der Konzentration des Nährbodens.

Neben den Verschiedenheiten in der Form der Kolonieen, die durch den wechselnden Feuchtigkeitsgehalt der Oberfläche von Agar verschiedener Konzentration verursacht werden, gibt es auch andern, die durch Widerstände, die sich dem Wachstum entgegenstellen, bedingt sind.

Je konzentrierter der Nährboden ist, um so stärker werden die Widerstände und um so deutlicher tritt die Wirkung, die sie auf die Form der Kolonieen ausüben, in Erscheinung.

Der Druck, der durch das Substrat dem Auswachsen der Kolonieen entgegengesetzt wird, bewirkt, daß die neugebildeten Organismen sich einigermaßen regelmäßig um die Impfzellen gruppieren, und daß auf

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konzentrierten Nährböden viel kleinere Kolonieen, als auf weniger konzentrierten entstehen. Fig. 2 und 3, Taf. I werden genügen, um dies zu veranschaulichen. Diese stellen Photographieen von Kolonieen eines dem Bacillus ramosus ähnlichen Organismus auf 1,5-proz. und 4-proz. Agar dar. Wenn auch die Größe der Kolonieen verschieden sind, so ähnelt sich das Aussehen ihrer Ränder, umso mehr je älter sie werden (vgl. Fig. 2 unten und Fig. 3 oben).

In sehr konzentrierten Nährmedien entstehen nach Dunham (13) linsenförmige Kolonieen mit stark gewellter Umrandung; in sehr weicher Gelatine bilden sich knospen- oder wurzelartige Auswüchse an der Oberfläche der Kolonie. In einem sehr weichen Medium bildet sich häufig nicht eine einzige Kolonie, sondern ein dichter Komplex von Kolonieen.

Durch eine doppelte Wahrnehmung wurde die Aufmerksamkeit Dunhams auf den Einfluß der physischen Bedingungen auf das Aussehen der Kolonieen gelenkt. Er fand nämlich folgendes:

„1) Dieselbe Bakterienart, die in verschiedenen Teilen derselben Gelatine gezüchtet wurde, welche aus denselben Ingredienzien bestand und die gleiche Reaktion aufwies, zeigten häufig Kolonieen, deren Aussehen stark voneinander abwich.

2) Bakterien verschiedener Arten bilden oft Kolonieen, die in manchen Gelatinen nicht voneinander zu unterscheiden sind, die aber, wenn in anderen Teilen der Gelatine gezüchtet, leicht als verschieden erkannt werden können.“

Die Ursachen dieser Erscheinungen wurden in dem verschiedenen Grade der Steifheit, des Schmelzpunktes, der Durchdringlichkeit und Viskosität der Gelatine vermutet. Daß die ersterwähnte Erscheinung vorkommen kann, habe ich schon gezeigt. Ich führe sie teilweise auf eine ungleichmäßige Verteilung der Feuchtigkeit im Nährboden zurück. Diese und andere anormale Kolonieen, deren Entstehung man sich bis jetzt nicht in befriedigender Weise erklären kann, hat man „atypische Kolonieen“ genannt.

Die besonderen Formen der Kolonieen, die durch Unterschiede in der Konzentration des Nährbodens hervorgerufen werden, sind von Rosenthal (14) für diagnostische Zwecke, zur Unterscheidung des Bact. coli von Bact. typhi benutzt worden.

In der Zusammenfassung der Ergebnisse seiner Arbeit hierüber schreibt er wie folgt:

„I. Verschiedene schon gut bekannte Bakterienarten zeigen bedeutende Veränderlichkeit ihrer Wachstumsformen in Gelatine unter dem Einfluß von zwei Faktoren, der Konsistenz der Gelatine und der Temperatur.

II. Verdünnte (2,5—3,0-proz.) Gelatine verbindet gewissermaßen die Vorzüge fester und flüssiger Nährböden und eignet sich zur Bildung von Wachstumstypen und Verbänden, die man weder in den ersteren noch in den letzteren so gut beobachten kann. Sie eignet sich vermutlich auch besonders dazu, Wachstums-, Teilungs- und Sporulationsvorgänge bei den Bakterien unter dem Mikroskop zu verfolgen.“

Es ist ja leicht zu verstehen, daß durch Schwankungen der Temperatur oder dadurch, daß ein Teil der Gelatine weich zu werden beginnt, sich die Widerstände, die den wachsenden Bakterien entstehen, und damit auch die Formen der Kolonieen ändern. Dadurch, daß die Gelatine erweicht, wird für die Bakterien die Möglichkeit geschaffen,

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von der Kolonie auszuschwärmen. Wird die Gelatine wieder fest und wachsen die Bakterien dann weiter, so entsteht an der betreffenden Stelle eine von der Mutterkolonie völlig getrennt liegende Tochterkolonie.

### 9. Einfluß der Oberflächenspannung auf die Kolonieenform.

Ein weiterer Faktor, der einen Einfluß auf die Form der Kolonieen haben kann, ist die Oberflächenspannung.

Je nach dem Gehalt der Kolonieen an Wasser und der Menge des etwa gebildeten Schleims wird die Kolonie einen niedrigen oder höheren Viskositätsgrad besitzen.

Wir müssen hier unterscheiden zwischen der Kohäsion der einzelnen Zellen unter sich und der Adhäsion der Zellen am Nährsubstrat. Ist diese Kohäsion sehr groß, so wird die heranwachsende Kolonie eine kugelähnliche Form gewinnen.

Ist dagegen die Kohäsion gering, so wird sich die Kolonie mehr in horizontaler Richtung ausbreiten und, vielleicht unter der Mitwirkung der Adhäsion zwischen Nährboden und Kolonieteilchen eine Art Scheibenform annehmen. Bei der Ausbildung der scheibenförmigen Kolonieen spielt natürlich auch die Art und Weise des Wachstums der Bakterien eine Rolle.

Wie ich später zeigen werde, ist das Wachstum an den Rändern einer Kolonie viel lebhafter als im Zentrum. Dies hat darin seinen Grund, daß die Wachstumsbedingungen am Rande für die Bakterien viel günstiger sind. Die an den Grenzen der Kolonie liegenden Bakterien streben in ihrem Wachstum nach außen, wo sie Nährstoffe in Menge finden und wo schädliche Stoffwechselprodukte noch gänzlich fehlen. Das Wachstum in der Mitte wird dagegen recht langsam und die Kolonie bekommt dadurch eine flache, scheibenförmige Gestalt.

Es gibt Kolonieen, die ganz den unscharf begrenzten Figuren von Flüssigkeitstropfen gleichen, die sich auf horizontaler Ebene ausbreiten. Aehnlich sind auch die Zooglöen der Myxomyceten gestaltet. Da Flüssigkeitstropfen ihre Gestalt der Kohäsionskraft und der durch diese hervorgerufenen Oberflächenspannung verdanken, so liegt die Vermutung nahe, daß bei der Bildung der Bakterienkolonieen dieselbe Kraft im Spiele ist.

Andere Kolonieen lassen sehr oft deutliche Linien erkennen, die vom Zentrum radial nach außen gerichtet sind; bei diesen Kolonieen ist oft der Umriß der Kolonie lappig. Fig. 4, Taf. I zeigt eine solche Kolonie von Bac. subtilis. Diese Form findet sich bei den Kolonieen vieler Bakterien- und Hefenarten. Andere Kolonieenformen sind dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Zentralkörper aufweisen, der relativ klein ist, der aber viele lange radiale Aeste aussendet (vgl. Fig. 5, Taf. I).

Bemerkenswert ist, daß die Form nur bei sehr kleinen, stark beweglichen Bakterien, wie Bac. coli, vorkommt. Ob es die lebhafte Bewegung der Bakterien allein ist, welche diese Form bedingt, oder ob vielleicht nebenbei noch der Umstand in Betracht kommt, daß die Kohäsion bei den Kolonieen dieser Bakterienarten sehr schwach ist, muß dahingestellt bleiben.

Die erwähnten radialen Linien kann man an den Kolonieen fast aller Arten von Mikroorganismen wahrnehmen. Sie müssen somit durch Einflüsse hervorgerufen werden, denen alle Organismen unterworfen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind. Worin die hier zum Ausdruck kommenden Unterschiede im Wachstum der Organismen in verschiedenen Teilen der Kolonieen ihren Grund haben, läßt sich ebenfalls nicht sagen.

Ein sehr schönes Beispiel für den Einfluß der Oberflächenspannung auf die Kolonieenform beobachtete Herr Dr. Rahn im hiesigen Laboratorium. Eine Torula-Art von der Oberfläche eines Kirschblattes, welche enorme Schleimmassen bildete, wuchs in Adhäsionskulturen nach Lindner (31) teils in breiten, schleimigen Massen, teils auch in kleinen Kugeln in der Flüssigkeitsschicht, zwischen Objektträger und Deckgläschen schwebend. Die Entstehung dieser Kugelkolonieen zeigt Fig. 23. Von der formlosen Schleimmasse lösen sich kleinere Teile los, die sich zu Kugeln abrunden, wenn der Raum zwischen Objektträger und Deckglas etwas größer wird. Die Figur zeigt in der formlosen Schleimmasse deutlich die einzelnen Torula-Zellen, während die Kugelform dieselben nicht mehr erkennen läßt. Durch Druck auf das Deckgläschen bildet sich aus den Kugeln wieder eine formlose Schleimmasse. Der Durchmesser der Kugeln beträgt meistens 40—60 $\mu$, doch gibt es auch kleinere von 20—30 $\mu$ und große bis zu 130 $\mu$ Durchmesser.

Ich kann nicht mit Bestimmtheit sagen, ob sich die Kugeln als solche durch Teilung vermehren, denn eine solche konnte nie beobachtet werden; trotzdem halte ich es für wahrscheinlich, denn die Zahl der Kugeln nimmt oft sehr stark zu und auch an der Seite, die der Schleimmasse abgewendet ist. Die Kugeln liegen dann dichtgedrängt, oft in mehreren Schichten übereinander. — Es ist offenbar, daß hier bei diesen schwebenden Kolonieen allein die Oberflächenspannung die Kugelform bedingt. Auf Agar bilden sie kleine, gewölbte, mattrosa gefärbte Kolonieen.

Eine sehr merkwürdige Erscheinung ist das Auftreten zweier verschiedener Kolonieentypen in älteren Präparaten. Die ursprünglichen Kugeln waren dunkel gelbbraun wie tiefliegende Kolonieen in Gelatine und ließen die einzelnen Zellen nicht deutlich erkennen. Neben diesen finden sich später andere, welche nur wenige große, deutlich erkennbare Zellen enthalten, die in der vollkommen wasserklaren Schleimschicht liegen. Sie liegen zuweilen nur an einem Rande der Schleimkugel und in manchen Kolonieen muß man die Zellen erst suchen, so versteckt liegen sie am Rande. Diese zweite Form sieht bei starker Vergrößerung wie ein Aspergillus-Köpfchen aus (Fig. 10, Taf. II). Eine Erklärung dieser merkwürdigen Doppelform kann ich zur Zeit noch nicht geben.

### 10. Einfluß des Lichtes auf die Kolonieenform.

Zu den wichtigsten der Einflüsse, denen alle Mikroorganismen unterworfen sind, und die sich nicht nur im Leben des einzelnen Individuums, sondern auch bei dem Entstehen und bei der Ausbildung der Kolonieen deutlich bemerkbar machen, gehört der Einfluß des Lichtes. Entweder wirkt er allein oder vereint mit den Einflüssen des Luftsauerstoffs und der Temperatur.

Die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum der Pilze ist schon vielfach untersucht worden, aber meiner Meinung nach nicht in erschöpfender Weise und unter Beobachtung der hierbei nötigen Vorsichtsmaßregeln.

Die Untersuchungen von Downes und Blunt, ferner von Ward, Dieudonné und Buchner beweisen, daß intensives Licht das Wachs-

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 · Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tum der Bakterien, Pilze etc. schädigt. Nicht alle Mikroorganismen sind gleich empfindlich gegen Licht. Die Empfindlichkeit wechselt vielmehr von Art zu Art und ist auch abhängig von dem Ernährungszustande der Organismen.

Schützt man die wachsenden Kolonieen nicht gegen das Licht, so erkennt man den Wechsel der Einwirkung, den der Wechsel von Tag und Nacht mit sich bringt, sehr deutlich an konzentrischen Zonen oder Ringen, die nicht nur an der Oberfläche, sondern auch in den tiefer liegenden Schichten der Kolonieen auftreten.

Diese Ringbildung ist eine längst bekannte Erscheinung, aber ich habe bis jetzt in der Literatur eine Erklärung dafür nicht gefunden. In allen Lehrbüchern (vgl. auch Serkowski) wird die Erscheinung als charakteristisch für gewisse Organismenarten beschrieben, und für einen Fall, bei Micrococcus concentricus, bemerkt Migula (System der Bakterien), daß er die von anderen behauptete Ringbildung nicht beobachten konnte.

Vermutlich bezieht sich diese Beobachtung auf Kulturen, die im Dunkeln gewonnen wurden und an denen dann natürlich die Ringbildung nicht eintreten konnte, weil das Wachstum ununterbrochen gleichförmig und nicht periodisch bald lebhafter, bald weniger lebhaft erfolgte. Aus diesem Grunde halte ich es für falsch, unter den verschiedenen Typen der Bakterienkolonieen, wie es Serkowski getan hat, die Kolonieen mit konzentrischen Ringen als einen besonderen Typus aufzuführen. Man könnte die Ringbildung für diagnostische Zwecke nur dann benutzen, wenn man den Einfluß des Lichtes dabei genau berücksichtigt.

Diese Ringe lassen sich sehr leicht erkennen, namentlich in Kolonieen von Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac. fluorescens liquefaciens, Sarcina lutea und vielen anderen. Einige Organismen, wie Spirillum concentricum und Micrococcus concentricus haben davon ihren Namen erhalten.

Ich werde im zweiten Teil dieser Arbeit zeigen, daß diese Ringbildung nicht allein die Folge von abwechselnden Wachstums- und Ruheperioden ist, sondern daß auch die Struktur der Kolonie einen sehr wesentlichen Anteil daran nimmt.

Auch an Hefekolonieen beobachtet man die Ringbildung häufig. Man braucht nur die zahlreichen Abbildungen in Lindners Mikroskopischer Kontrolle der Gärungsgewerbe und in seinem Atlas durchzusehen, um sich zu überzeugen, daß sie sehr häufig vorkommt.

Auch hier schreibe ich diese Erscheinung dem Einfluß des Lichtwechsels zu. Wenn Kny und Lohmann behaupten, daß „mäßiges Licht gar keinen Einfluß auf das Wachstum" hätte, so wurde dies durch meine Untersuchungen nicht immer bestätigt; das kommt wohl daher, daß die Lichtempfindlichkeit der verschiedenen Hefearten zwischen sehr weiten Grenzen schwankt.

Die Behauptung Lohmanns stützt sich auf Versuche über den Einfluß von natürlichem und künstlichem Licht auf die Zellteilung der Hefe. Wenn auch die Versuche mit verschiedenen Hefearten (Saccharomyces cerevisiae, Mycoderma cerevisiae, Sacc. Pastorianus und 2 Torula-Arten) ausgeführt werden, so können doch die benutzten Rassen zufällig sämtlich unempfindlich gewesen sein; vielleicht war auch die Versuchsdauer eine zu kurze.

Da bei seinen Untersuchungen auch die Temperatur schwankte, so

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist es nicht möglich, den Einfluß der Belichtung von dem der Temperatur zu trennen.

Bei Anwendung von Tageslicht (diffus aber doch ziemlich stark) beobachtete Lohmann Unterschiede in der Zellteilungsgeschwindigkeit im Licht und im Dunkeln wie 7,5 : 8 und wie 5,0 : 5,8. Die nachstehende Tabelle bringt die Ergebnisse von Versuchen, die ich im April 1905 mit Kahmhefe in Würze anstellte. Die Temperatur blieb bei diesen Versuchen fast konstant, sie schwankte nur um $^1/_2{}^0$ C und das Tageslicht wirkte ungehindert von morgens bis abends 6—8 Tage lang ein.

Die Versuche wurden so angestellt, daß sich in jeder der 12 großen Glasflaschen 6 Reagenzröhrchen mit je 20 ccm Würze befanden. Jedes der Röhrchen wurde mit einer Oese vergorener Würze geimpft und die Flaschen zugekorkt. Durch den Kork gingen 2 Rohre, mittels welcher Luft resp. Sauerstoff oder sauerstofffreier Wasserstoff eingeleitet wurden. Die Rohre wurden dann zugeschmolzen und die Kulturen im Brutschrank (Temperatur $22^1/_2$—23° C) oder im Zimmer (Temperatur 14° bis 21° C) aufgestellt. Einige Flaschen wurden in schwarzes Papier eingewickelt. Nach dem Schlusse der Versuche wurde die gesamte Flüssigkeit der 6 Röhrchen in jeder Flasche zusammengegossen und 100 ccm mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge titriert, während der Rest (d. h. 20 ccm) zur Zellzählung diente. Es wurden 2 Reihen von Versuchen angestellt, A und B, deren Zeitdauer 8 resp. 6 Tage war. Wenn auch einzelne der Kulturen ziemlich stark abweichen, so zeigen die anderen sehr gut übereinstimmende Resultate. In der Mehrzahl der Kulturen tritt eine Vermehrung der Zellen in der Dunkelheit (in Kulturen 1—8) und pro Millionen Zellen eine verminderte Säureproduktion hervor.

Merkwürdig scheint der Einfluß des Lichtes auf die Sprossung im Wasserstoff zu sein. Die Kulturen A 9, 10, 11, 12 und B 9 und 10 zeigen eine stärkere Sprossung im Wasserstoff und Licht als im Wasserstoff und in der Dunkelheit. Dies könnte auf eine geringe Reizwirkung zurückzuführen sein.

Obgleich die erwähnten Ringe an den Kolonieen vieler Hefearten ohne weiteres zu sehen sind, war dies bei meinen Kahmhefekolonieen nicht möglich. Bei meinen Versuchen über das Fixieren der Kolonieen entdeckte ich jedoch, daß sich beim Uebergießen der Kolonieen mit Wasser oder besser noch mit geschmolzenem Agar oder Gelatine, die obere Zellschicht abtrennte und auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwamm, und daß sich in dieser Zellschicht die Ringe sehr deutlich erkennen ließen. Diese Unbenetzbarkeit ist sehr wahrscheinlich auf die Gegenwart von Luft in der oberen Zellschicht zurückzuführen.

Man könnte nun noch einwenden, daß die Ringbildung möglicherweise eine gewöhnliche, d. h. eine normale Wachstumserscheinung wäre. Ich werde jedoch im zweiten Teil dieser Arbeit zeigen, daß sie die Folge besonderer physiologischer Vorgänge in den Kolonieen ist. Sie kennzeichnet sich als die äußere Erscheinung gewisser im Innern der Kolonie vorhandener Unterschiede der Zellformen.

Wie bei den Kolonieen von Bakterien und Hefen, so tritt die Ringbildung auch bei den Kolonieen von Schimmelpilzen auf.

Die Kolonieen verschiedener Varietäten von Penicillium, Aspergillus, Mucor, Oidium und Dematium zeigen deutlich sichtbare konzentrische Zonen, die aus abwechselnden Ringen von Sporenträgern und Mycel bestehen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuche mit Kahmhefe in Bierwürze (100 ccm frischer Würze = 0 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH).

| | Kulturbedingungen | Serie A. Versuchsdauer: 8 Tage | | | Serie B. Versuchsdauer: 6 Tage | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Acidität der Würze pro 100 ccm | Anzahl der Zellen pro ccm | Länge der Zellen | Acidität der Würze pro 100 ccm | Anzahl der Zellen pro ccm | Länge der Zellen |
| In Luft | I. Bei wechselnder Temperatur und wechselndem Licht | 16,8, ccm $\frac{N}{10}$NaHO | 45 000 000 | 4,5 μ | 18,2 ccm $\frac{N}{10}$NaHO | 71 500 000 | 5,5 μ |
| | II. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit | 17,4 „ „ | 74 000 000 | 5,5 μ | 15,0 „ „ | 60 000 000 | 4,0 μ |
| | III. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht | 54,6 „ „ | 75 000 000 | 4,5 μ | 27,8 „ „ | 61 000 000 | 4,5 μ |
| | IV. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit | 42,9 „ „ | 100 000 000 | 4,0 μ | 23,0 „ „ | 71 000 000 | 3,0 μ |
| In $O_2$ | V. Bei wechselnder Temperatur und wechselndem Licht | 17,0 „ „ | 49 000 000 | 5,5 μ | 13,0 „ „ | 34 000 000 | 5,0 μ |
| | VI. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit | 17,4 „ „ | 40 500 000 | 5,5 μ | 15,0 „ „ | 36 000 000 | 4,5 μ |
| | VII. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht | 51,8 „ „ | 65 000 000 | 5,5 μ | 27,8 „ „ | 38 000 000 | 6,0 μ |
| | VIII. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit | 48,6 „ „ | 69 000 000 | 6,0 μ | 29,0 „ „ | 72 000 000 | 6,3 μ |
| In $H_2$ | IX. Bei wechselnder Temperatur und wechselndem Licht | 19,7 „ „ | 45 000 000 | 4,0 μ | 14,8 „ „ | 44 000 000 | — |
| | X. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit | 8,2 „ „ | 24 500 000 | 4,0 μ | 6,2 „ „ | 30 000 000 | 4,5 μ |
| | XI. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht | 30,3 „ „ | 41 500 000 | 5,5 μ | 0,2 (?) „ „ | 3 500 000 (?) | 4,0 μ |
| | XII. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit | 27,7 „ „ | 38 000 000 | 5,5 μ | 12,2 „ „ | 20 500 000 | 4,5 μ |

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

No. 17. Flüssigkeitsoberfläche am 3. Tage von einer vollständigen, matten, glasigen Haut bedeckt. Haut dünn, matt-weiß bis hellgelb-bräunlich, schwach gefaltet, fällt sehr leicht zu Boden (trotz Lufteinschluß), steigt an der Wandung des Kulturgefäßes empor und bleibt bei Bewegung der Kultur an ihr hängen.

No. 11. Flüssigkeitsoberfläche am 3. bis 4. Tage von einer matten, glasigen Haut bedeckt. Haut ziemlich stark, trocken, mattweiß, sehr geringe Faltungen, die nicht gekröseartig sind, sondern gerade verlaufen, von je einem Punkt fächerförmig ausstrahlend. Haut steigt an der Gefäßwandung empor und bleibt an dieser bei Bewegung der Kultur hängen. Fällt leicht zu Boden (trotz Lufteinschluß). Aeltere Häute glatt, mattweiß, trocken.

b) No. 6. Haut sehr dünn, glatt, matt, trocken. Sinkt sehr leicht zu Boden, steigt an der Gefäßwandung empor und bleibt bei Bewegung an dieser hängen. Aeltere Kulturen ohne oder nur mit schwacher, gelblich-weißer Haut. Ringbilduug gering.

No. 10. Entwickelung der Haut ungemein langsam, von einzelnen Inselchen oder vom Ring ausgehend. Sehr alte Kulturen mit weißer oder ausgesprochen rosaroter, grobgefalteter, glasiger bis trockener Haut. Wenige Gasblasen unter der Haut.

II. Typus.

Die Hautbildung ist dadurch charakterisiert, daß sich zunächst zahlreiche Inselchen entwickeln, die längere Zeit isoliert bleiben und nicht nur in die Fläche, sondern auch in die Höhe wachsen. Anfangs matt, farblos, teilweise wie Tropfen geschmolzenen Fettes, sehen sie später weiß, kreidig aus. Die Inselchen schließen sich zu einer lückenlosen Haut zusammen.

1) Inselchen von ziemlich regelmäßiger oder unregelmäßiger Form, aber immer scharf begrenzt. Wulsten sich entweder am Rand auf („Schüsselchen", No. 12) oder wachsen mehr oder minder gleichmäßig in die Fläche, sind jedoch nach der Mitte zu etwas verdickt, kleine Inselchen sind also flach gewölbt (No. 2, 9 und 16).

No. 2. Hautbildung beginnt schon am 3. Tage. Haut sehr stark entwickelt, teils noch farblos, matt, teils gelblich-weiß, trocken kreidig. Haut zwar geschlossen, es sind aber immer noch deutlich die einzelnen Inselchen als stärker entwickelte Partieen, deren Umrisse mehr oder weniger durch dünnere, die einzelnen Inselchen verbindende Partieen verwischt sind. Gasblasen unter der Haut in relativ geringer Zahl. Die Haut zerfällt sehr leicht und sinkt mit größeren Teilchen leicht zu Boden. Die Entwickelung der Haut ist viel langsamer als bei No. 16.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In älteren Kulturen Haut und Ring hellgelblich-weiß. Haut dick, trocken, nicht dehnbar, hat festen inneren Zusammenhalt. Oberfläche glatt. Schwimmt in großen Stücken auf der Flüssigkeitsoberfläche. Starker Ring.

No. 16. Hautbildung beginnt schon am 3. Tage. Ungemein starke, gelblich-weiße, trockene Haut, an welcher ebenfalls noch die einzelnen Inselchen erkennbar sind. Form und Ausbildung der Inselchen wie bei No. 2, jedoch Oberfläche wie kreidig bestäubt oder behaart. Sehr reichlich Gasblasen unter der Haut, die an diesen Stellen dünner ist und die einzelnen Entwickelungszentren erkennen läßt. In älteren Kulturen sehr starke, hellgelb-braune, glatte Haut, beweglich, dehnbar. Schwimmt leicht auf der Nährflüssigkeit. Oberfläche der Haut leicht gefaltet, teilweise in Blasenform gehoben. Starker Ring.

In ungehopfter Würze schwache Gelbfärbung des Ringes.

No. 9. Haut stark entwickelt, aber noch nicht geschlossen; einzelne größere und kleinere flache, gleichmäßig dicke oder flach gewölbte, anfangs matte, dann mattglänzende, farblose, später trockene, kreidig-weiße Inselchen, deren Oberfläche mit zahlreichen Höckerchen bedeckt ist. Die Hautinselchen verschmelzen an den Berührungsstellen leichter als bei No. 12.

In älteren Kulturen völlig glatte, wenig dehnbare (bei stärkerer Bewegung zeigen sich Risse), schwach rosarot gefärbte Haut.

No. 12. Hautbildung beginnt sehr frühzeitig und ist eine rasche. Sehr starke, geschlossene Haut, die jedoch noch sehr deutlich die einzelnen Inselchen erkennen läßt. Diese besitzen mehr oder weniger regelmäßige, rundliche Form und sind kleinere an den Rändern aufgewulstet („Schüsselchen"), größere flach. Farbe zum größten Teil kreidig-weiß bis gelblich-weiß. Oberfläche kreidig bestäubt bis leicht höckerig. Die kleineren Inselchen, wie alle bei Beginn der Hautbildung, noch wie erstarrte geschmolzene Fetttropfen („Fettaugen"). Die Aufwulstungen an den Rändern werden kreidig-weiß. Gasblasen in geringer Zahl unter der Oberfläche. Die Hautinselchen schließen sich sehr langsam und schwer zu einer zusammenhängenden Haut zusammen. Sie sind auch dann, wenn sie sich schon lange in gegenseitiger Berührung befinden, scharf abgegrenzt. Die Hautbildung bei No. 12 ist eine eigenartige, sie ist völlig verschieden von derjenigen der anderen Arten. In älteren Kulturen ungemein starke, trockene, derbe, sehr zähe und sehr fest in sich zusammenhängende Haut, grob gefaltet (gekröseartig wie bei Typus I), schwach gelb-bräunlich, in sehr alten Kulturen auch zart rosarot gefärbt. Die Färbung geht noch auf die nächstfolgenden Generationen über, verliert sich aber bald wieder.

Vergl. Hautbildung auf Bier.

2) Hautinselchen nicht scharf begrenzt, schleimig.

No. 1. Haut- und Ringbildung beginnt am 3. Tage. Die ganze Flüssigkeitsoberfläche ist von einer dünnen, farblosen, mattglänzenden, schleimigen Haut überzogen, die zwar einzelne Entwickelungszentren erkennen läßt, jedoch ist deren Umgrenzung keine scharfe. Die Haut zerfällt leicht und sinkt in größeren Stücken zu Boden. Sie entwickelt sich sehr langsam, noch langsamer als bei No. 2.

Auf älteren Kulturen glatte, dünne, bewegliche, dehnbare, mattweiße, trockene oder schleimige Haut. Starker Ring von Hefefarbe.

No. 5. Hautbildung kommt sehr langsam nach vorausgegangenen Gärungserscheinungen zu stande. Zunächst ist nur ein geringer, ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schlossener, milchweißer Ring sichtbar, dann treten zahlreiche, sehr kleine unregelmäßige, matte, farblose Hautinselchen auf. Haut dünn, glatt, matt, farblos, feucht. Sinkt sehr leicht zu Boden. Die einzelnen Entwickelungszentren, von unregelmäßiger Form, erkennbar.

In älteren Kulturen starker, milchweißer, feuchter Ring.

III. Typus.

Haut gleichmäßig, schleimig (wenigstens anfangs).

No. 7. Entwickelung der Haut sehr langsam vom schleimigen Ring aus, an welchem zunächst einzelne stärker entwickelte Kolonieen sichtbar werden oder meist von einzelnen an der Oberfläche sich vereinigenden Schleimflocken ausgehend.

In älteren Kulturen die glasig-schleimige Haut ungemein stark. In sehr alten Kulturen mäßiger, grau-weißer, feuchter Ring.

No. 8. Entwickelung der Haut sehr langsam. Nur schwacher, schleimiger Ring. In älteren Kulturen ziemlich starker Ring, schwache, ungleichmäßig ausgebildete, auch schwach gefaltete, schleimige Haut, die entweder vom Ring oder von zahlreichen isolierten, unregelmäßig geformten und nicht scharf begrenzten Inselchen ausgeht.

In sehr alten Kulturen dünne, farblose, trockene Haut, die beweglich und dehnbar ist, aber leicht zu Boden sinkt.

Geringer bis mäßiger, trockener Ring von Lederfarbe.

Die einzelnen Hauttypen sind also nicht auf bestimmte Gruppen der Organismen beschränkt, jedoch überwiegt bei den Torula-Formen der ersten Gruppe der I. Typus, während bei der zweiten Gruppe ebenso oft der I. wie der II. vorkommt.

d) In Milch.

Sproßpilze ohne Sporenbildung, insbesondere die der ersten Gruppe angehörigen Torula-Formen, sind in milchwirtschaftlichen Betrieben nicht selten und werden einige derselben nach Angaben in der Literatur für Fehler, welche an deren Produkten auftreten, verantwortlich gemacht. Genauer untersucht sind aber von diesen Sproßpilzen nur sehr wenige. Es bot daher Interesse, das Verhalten der vorliegenden Arten gegenüber Milch zu studieren, um so mehr als sich hierbei Erscheinungen geltend machen konnten, welche als diagnostische Merkmale zu verwerten sind.

Eine erste Versuchsreihe wurde mit Vollmilch ausgeführt. In 75 ccm-Erlenmeyer-Kölbchen wurden je 20 ccm nichtabgerahmter Milch gegeben und jene mit Watte verschlossen. Hierauf wurden die Kölbchen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im strömenden Dampf je eine halbe Stunde und nach zweitägigem Stehen nochmals gleiche Zeit lang sterilisiert. Die Beobachtung während der folgenden 8 Tage erwies deren vollkommene Sterilität.

In einer zweiten Versuchsreihe kam abgerahmte Milch als Nährflüssigkeit zur Verwendung in der Erwägung, daß möglicherweise die große, in der Vollmilch enthaltene Fettmenge, welche sich an der Oberfläche ansammelt, der Entwickelung der Organismen hinderlich sein konnte. Eine größere Zahl der letzteren entwickelt sich ja auf der Flüssigkeitsoberfläche.

„Blaue“ Milch wurde zunächst nach dem Aufkochen nochmals im Laboratorium ca. 12 Stunden lang aufgestellt, um eine wiederholte Abscheidung von Fett zu veranlassen. Von dieser zweimal abgerahmten Milch erhielten Erlenmeyer-Kölbchen wie beim ersten Versuch je

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20 ccm. Nach 1-stündigem Sterilisieren im Dampftopf blieben die Kolben 2 Tage stehen, um dann nochmals der gleichen Behandlung unterzogen zu werden. Ein noch öfteres Sterilisieren wurde deshalb vermieden, weil die Milch anfing sich zu färben. Die in den wiederholt sterilisierten Kölbchen abgeschiedene Fettschicht war nach 10-tägigem Stehen, während welcher Zeit die Milch völlig intakt blieb, eine geringe.

Beimpft wurde die Milch mit 4 Tage alten, in Würze bei 25 ° C hergezüchteten Kulturen, von welchen die Würze möglichst entfernt war. Je zwei Kölbchen erhielten je eine Platinöse der kräftig entwickelten und im besten Zustand befindlichen Organismen.

Die beimpften Kölbchen wurden im Laboratorium aufgestellt. Das Ergebnis der Versuche ist in den beiden folgenden Tabellen zusammengestellt. In der zweiten Kolumne kommt auch das Ergebnis einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung zum Ausdruck.

(Siehe Tabellen p. 335—337.)

In morphologischer Beziehung sei zu vorstehenden Angaben noch bemerkt, daß die Zellen der Organismen bei ihrer Entwickelung in der Milch im allgemeinen kleiner bleiben.

Sehr rasch entwickeln sich also nur No. 3 + 4 der I. Gruppe und No. 12 der III. Gruppe, und zwar hauptsächlich in Form von Häuten auf der Flüssigkeitsoberfläche; bei No. 3 + 4 trat wieder eine zitronengelbe Färbung auf. Die Vermehrung der übrigen Organismen aller Gruppen ist eine mehr oder minder langsame, doch kommt es gleichwohl im Laufe der Zeit bei vielen zur Produktion einer reichlichen Vegetation entweder längs des Flüssigkeitsrandes oder im Absatz, in einem Falle (No. 1 beim 1. Versuch) auch in Form einer Haut.

Bemerkenswerte Erscheinungen traten nur bei No. 8 und zwar gleichmäßig in beiden Versuchsreihen hervor: einmal die Braunfärbung und zweitens die deutlich ausgesprochene Koagulation der Milch. Letztere scheint allerdings, wenn auch in den meisten Fällen nur eben durch eine grünliche bis grünlich-gelbe Verfärbung der Milch und durch ein Wässerigwerden angedeutet, auch bei anderen Arten stattzufinden. Deutlich war jedoch diese Erscheinung nur bei No. 16 in der II. Versuchsreihe.

Bemerkenswert ist ferner der mehr weniger ausgesprochene käsige Geruch, welchen viele der Kulturen aufwiesen.

## Einfluß der Temperatur.

### a) Grenztemperaturen für die Entwickelungsfähigkeit.

Die Grenztemperaturen für die Entwickelungsfähigkeit geben für die Saccharomyceten gute Unterscheidungsmerkmale ab. Sie wurden daher auch für die vorliegenden Sproßpilze in wiederholten Versuchsreihen, und zwar für die Entwickelungsfähigkeit in gehopfter Bierwürze und in neutralem Hefewasser mit einem Zusatz von 6 Proz. Rohrzucker festgestellt. Außerdem gelangte in Hinsicht auf praktische Fragen des Brauereibetriebes eine Versuchsreihe in Reinhefebier bei einer Temperatur, welche sich zwischen +0,5 und —2,0 ° C bewegte, zur Ausführung. Diese niederen Temperaturen sind überhaupt für die Beurteilung der vorliegenden Organismen vom praktischen Standpunkte neben der Widerstandsfähigkeit gegen Hefe, in erster Linie gegen Bierhefe und deren Gärungsprodukte von Bedeutung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## I. Vollmilch.

| No. | Vermehrung | Aeußere Erscheinungen des Wachstums nach 1 Monat | Veränderungen der Milch |
|---|---|---|---|
| | | **I. Gruppe.** | |
| 3 | Sehr rasche Entwickelung. Am 6. Tage Hautbildung | Starke, gefaltete, deutlich zitronengelb gefärbte Haut | Eben wahrnehmbarer käsiger Geruch. Farbe der Milch graugrün |
| 4 | Desgl. | Sehr starke Haut, deutlich zitronengelb gefärbt | Desgl. |
| 6 | Ungemein langsam | Sehr mäßige Entwickelung, hauptsächlich am Rand der Milch, aber auch als Absatz | Kein abnormer Geruch. Keine sonstigen Veränderungen wahrnehmbar |
| 17 | Langsam. Am 15. Tage anscheinend noch keine Vermehrung | Starke Entwickelung am Rand | Geruch unverändert. Farbe der Milch nicht mehr rein weiß. Keine Koagulation |
| 11 | Rasche Entwickelung. Am 15. Tage Hautbildung | Starke Entwickelung am Rand. Intensive zitronengelbe Färbung am Rand | Geruch unverändert, auch sonst keine Veränderung wahrnehmbar |
| 5 | Sehr langsam. Am 15. Tage Entwickelung noch nicht sichtbar | Ziemlich starke Entwickelung am Rand. Kein Fadenziehen des Absatzes | Eben wahrnehmbarer käsiger Geruch |
| 7 | Ungemein langsam. Vermehrung überhaupt sehr gering | Am Flüssigkeitsrand in geringer Zahl, im Absatz häufig Zellen von No. 7 | Keine Veränderungen wahrnehmbar |
| 8 | Langsam. Nach 15 Tagen mäßige Entwickelung | Hauptsächlich Ringbildung, ungemein starker Absatz | Sehr deutlich ausgesprochen käsiger (wie Backsteinkäse) Geruch. Am 15. Tage Milch verändert, nicht mehr rein weiß. Sie klärt sich unter Ausscheidung fester Massen von oben her. Die Rahmschicht bleibt erhalten. Nach 30 Tagen Milch dünnflüssig. Randpartie intensiv braun, die Milch selbst schwarzbraun gefärbt. Die Färbung ist an die Fettkügelchen gebunden. |
| | | **II. Gruppe.** | |
| 1 | Sehr langsam. Am 15. Tage noch keine Entwickelung sichtbar, nach 30 Tagen starke Entwickelung | Hautbildung | Schwach käsiger Geruch. Keine Koagulation. |
| 9 | Sehr langsam. Am 15. Tage noch keine Entwickelung wahrnehmbar | Sehr starke Entwickelung hauptsächlich am Rand | Geruch unverändert. Keine sonstigen Veränderungen wahrnehmbar |
| 10 | Sehr langsam. Am 15. Tage noch keine Entwickelung wahrnehmbar | Sehr starke Entwickelung am Rand und als Haut | Sehr deutlicher käsiger Geruch. Farbe der Milch nicht mehr rein weiß. Keine Koagulation |
| 2 | Noch langsamer als No. 1. Am 15. Tage noch keine Entwickelung sichtbar. Am 30. Tage Entwickelung ungemein schwach | — | Keine Veränderungen wahrnehmbar |

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| No. | Vermehrung | Aeußere Erscheinungen des Wachstums nach 1 Monat | Veränderungen der Milch |
|---|---|---|---|
| 15 | Ungemein langsam. Am 30. Tage Entwickelung äußerlich nicht sichtbar | Sehr geringe Entwickelung am Rand und an der Flüssigkeitsoberfläche | Geruch unverändert. Keine sonstigen Veränderungen |
| 16 | Ungemein langsam. Am 15. Tage anscheinend noch keine Entwickelung | Mäßige und starke Entwickelung | Geruch unverändert. Farbe der Milch schwach grünlich. Keine Koagulation. |
| | | III. Gruppe. | |
| 12 | Sehr rasche Entwickelung. Am 6. Tage starke Hautbildung | Sehr starke, weiße, grob-, aber nicht reichgefältete Haut | Farbe der Milch nicht mehr rein weiß. Deutlicher Geruch nach einer Fettsäure (Baldriansäure?). Keine Koagulation. |

Kontrollproben steril. In älteren Kulturen Rahmschicht unverändert.

## II. Abgerahmte Milch.

I. Gruppe.

| No. | Vermehrung | Aeußere Erscheinungen des Wachstums nach 1 Monat | Veränderungen der Milch |
|---|---|---|---|
| 3 | Sehr rasche Entwickelung. Am 6. Tage Haut, schwach gefaltet | Mäßige Entwickelung im Ring (also Haut zum größten Teil zu Boden gesunken) und im Absatz. Gelbfärbung | Geruch deutlich schwach käsig. Milch im übrigen unverändert, keine Koagulation |
| 4 | Desgl. | Stärkere, feingefaltete Haut. Sehr starke Entwickelung im Ring. Entwickelung im Bodensatz (Haut z. größten Teil zu Boden gesunken). Eine noch stärkere Entwickelung der Haut scheint durch die vorhandene Rahmschicht verhindert worden zu sein. Gelbfärbung | Schwacher, aber deutlicher, käsiger Geruch. Milch gelb gefärbt. Keine Koagulation |
| 6 | Sehr langsam. Nach einem Monat noch zweifelhaft, ob überhaupt Entwickelung stattgefunden | Entwickelung sehr gering, im Ring und im Bodensatz | Geruch unverändert, auch sonst keine Veränderungen wahrnehmbar |
| 17 | Langsam. Am 6. Tage äußerlich noch keine Entwickelung wahrnehmbar. Am 9. Tage anscheinend Hautbildung | Starke Vermehrung im Ring | Sehr schwacher „Kuhstallgeruch". Farbe der Milch kaum verändert. Keine Koagulation |
| 11 | Langsam. Am 6. Tage äußerlich keine Entwickelung wahrnehmbar. | Mäßige Entwickelung im Ring und im Absatz | Schwacher Geruch wie nach Mist („Kuhstallgeruch"). Farbe der Milch nicht mehr rein weiß. Im übrigen keine Veränderung, insbesondere keine Koagulation |
| 5 | Sehr langsam. Nach einem Monat äußerlich noch zweifelhaft, ob Entwickelung stattgefunden | Ziemlich starke Entwickelung, hauptsächlich im Absatz, der fadenziehend ist. Entwickelung im Ring | Schwacher, aber deutlich wahrnehmbarer käsiger Geruch |
| 7 | Desgl. | Geringe Entwickelung im Ring und im Absatz | Geruch der Milch nicht mehr völlig so wie in der Kontrollmilch, jedoch ist die Veränderung sehr gering und kaum zu definieren |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized

| No. | Vermehrung | Aeußere Erscheinungen des Wachstums nach 1 Monat | Veränderungen der Milch |
|---|---|---|---|
| 8 | Langsam. Am 6. Tage äußerlich keine Entwickelung wahrnehmbar | Schwache Entwickelung im Ring und im Absatz | Ungemein schwacher käsiger Geruch. Im Ring an einzelnen Stellen hellbräunl. Flecken. Milch ebenfalls schwach bräunlich gefärbt, von wässerigem Aussehen. Die lokalisierte Färbung ist an die Fettkügelchen gebunden |
| | | **II. Gruppe.** | |
| 1 | Sehr langsam. Am 6. Tage äußerlich keine Entwickelung sichtbar | Sehr mäßige Entwickelung auf der Oberfläche (Ringbildung). Mäßige Entwickelung im Bodensatz | Deutlich schwach käsiger Geruch. Milch nicht mehr weiß, grünlich-gelb wie Molken. Keine Koagulation |
| 9 | Desgl. | Starke Entwickelung, hauptsächlich in der Haut und im Ring, aber auch im Absatz | Sehr schwacher, aber deutlicher käsiger Geruch. Milch leicht gelblich gefärbt, im übrigen unverändert |
| 10 | Desgl. | Starke Entwickelung an der Oberfläche und im Ring | Sehr schwacher käsiger Geruch. Farbe der Milch nicht mehr rein weiß. Im übrigen keine Veränderungen, insbesondere keine Koagulation |
| 2 | Noch langsamer als bei No. 1. Nach einem Monat noch zweifelhaft, ob Entwickelung stattgefunden | Mäßige Entwickelung im Bodensatz | Milch im allgemeinen unverändert, nur beim Ausgießen wässerig |
| 15 | Ungemein langsam. Am 6. Tage äußerlich noch keine Entwickelung wahrnehmbar | Sehr geringe Entwickelung an der Oberfläche | Geruch unverändert. Auch sonst keine Veränderung |
| 16 | Desgl. | Starke Entwickelung im Ring | Geruch schwach verändert, etwa als moderig zu bezeichnen. In der einen Kultur hat sicher eine Koagulation stattgefunden. In der wässerig gewordenen, grünlich-gelb gefärbten Milch (Molken) schwimmen große, käsige Klumpen. In der 2. Kultur ist jedenfalls schon Koagulation vorhanden, aber nicht in dem Umfange wie bei der 1. Farbe der Milch ebenfalls grünlich-gelb |
| | | **III. Gruppe.** | |
| 12 | Sehr rasche Entwickelung. Am 5. Tage größere Hautinselchen deutlich sichtbar | Ziemlich starke Haut mit den charakteristischen Erscheinungen | Geruch deutlich wie bei No. 11. Farbe der Milch ist nicht mehr rein weiß. Im übrigen keine Veränderung, insbesondere keine Koagulation |

Kontrollproben steril, unverändert.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In der Versuchsreihe mit Würze kam eine gehopfte Würze von 14,6 Proz. B. zur Verwendung, welche in Mengen von 30—40 ccm auf kleine mit Watte verschlossene Erlenmeyer-Kolben abgefüllt und eine halbe Stunde im Dampftopf sterilisiert worden war. Die sterilisierten Kölbchen blieben vor der Beimpfung in allen Fällen mehrere Tage stehen, teils zum Zweck der Lüftung, teils, um die Ueberzeugung zu gewinnen, daß sie auch wirklich steril waren. In gleicher Weise wurde mit dem Hefezuckerwasser verfahren. Es war dies das gleiche, welches zu den früher beschriebenen Versuchen verwendet worden war.

Das Impfmaterial lieferten in allen Fällen Kulturen in gehopfter Würze von 11,5 Proz. B., welche während 3—4 Tage bei 25° C gestanden hatten. Jedes Kölbchen erhielt in 2 Parallelreihen nach dem Abgießen der Würze bis auf einen kleinen Rest aus der Mischung von Haut- und Bodensatzzellen je eine Platinöse. Die Tatsache, daß bei dieser geringen Einsaat die Zellen bei den höheren Temperaturen vielfach zwar anfangs noch in geringem Maße sich vermehrten, dann aber abstarben, führte dazu, bei den höheren Temperaturen neben den Kulturen mit dieser schwachen Einsaat auch solche mit einer stärkeren und zwar mit 2—3 Tropfen der Mischung aufzustellen. Es war nicht ausgeschlossen, daß bei dieser stärkeren Einsaat sich die eine oder andere Zelle widerstandsfähiger erwies und dann zu andauernder Vermehrung kam.

Die Temperaturen wurden während der ganzen Versuchsdauer in den verschiedenen Thermostaten möglichst genau eingehalten und die Versuchsdauer nicht zu lange ausgedehnt; in der Regel betrug sie bei den höheren Temperaturen ca. 14 Tage, bei den mittleren und niederen jedoch 1—4 Monate.

Von allen Organismen, welche keine Entwickelung zeigten und bei welchen auch die mikroskopische Untersuchung anscheinend die Gegenwart lebender Zellen nicht ergab, wurde zunächst nur eine Parallelkultur untersucht. Manchmal schien es, als ob die Zellen der Einsaat nur sehr stark geschwächt und in Wärmestarre übergegangen seien. Daher war nicht ausgeschlossen, daß bei günstigeren Temperaturen (20° C) eine Wiederbelebung erfolgte. Dementsprechend wurden die zweiten Parallelkulturen zu 20° C gestellt.

Die niedrigste Temperatur des Panumschen Thermostaten, welcher neben anderen zur Verwendung kam, betrug durchschnittlich nur + 6° C; bei dieser vermehrten sich aber alle Organismen noch. Möglicherweise boten noch niedere, um 0° sich bewegende, wie bei der oberen Wachstumsgrenze Verschiedenheiten, die wie diese als diagnostisches Merkmal Verwendung finden konnten. Dem liebenswürdigen Entgegenkommen eines befreundeten Betriebschemikers in einer hiesigen Großbrauerei habe ich es zu danken, daß ich entsprechend vorbereitete Kulturen über 1 Monat lang in dem Hopfenkonservierungsraum der Brauerei beobachten konnte. Die Kulturen standen in unmittelbarer Nähe des selbstregistrierenden Thermometers, dessen Kurvenverlauf sich während dieser Zeit in konstant absteigender Linie zwischen + 0,5° und — 2,0° C bewegte, und zwar stand die Temperatur während der ersten 6 Tage über bezw. bei 0°, während sie die übrige Zeit unter 0° lag. Wenn berücksichtigt wird, daß schon bei + 6° C eine Vermehrung der Einsaat in gehopfte Bierwürze bei den meisten der vorliegenden Organismen nicht vor dem 7. Tag, bei No. 17 nicht vor dem 30. Tag äußerlich beobachtet werden konnte, so darf wohl angenommen werden, daß die Vermehrung sich hauptsächlich bei Temperaturen unter 0° vollzog.

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Die Versuchsanstellung war in diesem Falle folgende. Starkwandige Reagenzgläser, wie sie zu den Gelatinekulturen dienen, wurden mit je 10 ccm folgender Nährflüssigkeiten gefüllt und mit einem Wattepfropfen verschlossen.

1) Gehopfte, filtrierte Bierwürze von 14 Proz. B.

2) Neutrales Hefewasser mit 6 Proz. Rohrzucker.

3) Reinhefebier. Bierwürze war in zwei Pasteur-Kolben mit einer reingezüchteten untergärigen Münchener Bierhefe von 12—13 Proz. auf 3,5--4 Proz. vergoren worden.

Die Würze wurde $^1/_2$ Stunde, das empfindlichere Hefezuckerbier $^3/_4$ Stunden lang im Dampftopf sterilisiert.

Das vollständig klare, vom Bodensatz abgegossene Reinhefewasser dagegen verteilte man ohne vorausgegangene Sterilisation, um dessen Zusammensetzung nicht zu ändern, mit größter Vorsicht in Mengen von je 10 ccm in Reagenzgläser, welche 1 Stunde lang im Dampftopf sterilisiert worden waren. Bis zur Beimpfung, welche nach 4 Tagen erfolgte, hatte es geringe Mengen von Hefe abgesetzt. Jene selbst geschah mit Kulturen, welche während 4 Tage bei 25° C in Würze hergezüchtet worden waren, in der früher angegebenen Weise mit je zwei Platinösen der Mischung in je zwei Parallelkulturen. Die Kulturen nebst zwei Kontrollproben des Reinhefebieres wurden sodann in Drahtkörbe verpackt und diese im Hopfenkonservierungsraum aufgestellt.

Beim Abschluß dieser Versuchsreihen wurden aus den gleichen Erwägungen in derselben Weise wie bei den Versuchen über die obere Grenztemperatur verfahren und je eine Parallelkultur eventuell zu 20° C gebracht, um etwa in Kältestarre übergegangene Organismen von neuem zu beleben.

Die Ergebnisse der Versuche sind in den folgenden Tabellen kurz niedergelegt.

(Vergl. die Tabellen p. 340.)

Betrachten wir zunächst die oberen Grenztemperaturen, so ist sofort ersichtlich, daß diese sowohl für die gleichen Organismen in den beiden Nährflüssigkeiten als auch für die 3 Gruppen im allgemeinen verschieden sind. Auch innerhalb der einzelnen Gruppen liegt bei einigen Arten die obere Grenze für die Entwickelungsfähigkeit so weit voneinander entfernt, daß sie recht wohl als diagnostisches Merkmal benutzt werden kann.

Die obere Grenztemperatur liegt für die günstigere Nährflüssigkeit, das Hefezuckerwasser, im allgemeinen höher als für die gehopfte Bierwürze und ebenso für die zweite Gruppe der Organismen im allgemeinen höher als für die erste Gruppe.

Für die erste Gruppe liegt die obere Grenztemperatur in Bierwürze mit Ausnahme von No. 17 und No. 5, von welchen letztere Art sich selbst bei schwacher Einsaat, erstere bei starker Einsaat noch bei 35° C entwickelte, und von No. 8, bei welchem über 25° C hinaus keine Vermehrung mehr erfolgte, bei 30° C. In neutralem Hefewasser dagegen vermochten sich No. 3 + 4 sogar bei schwacher Einsaat noch bei 40° C zu vermehren, unter den gleichen Bedingungen No. 17 und No. 5 bei 35° C. Für No. 6 und No. 8 liegt dagegen wie bei der gehopften Würze die obere Grenztemperatur unterhalb 35° C.

In der zweiten Gruppe geht die obere Grenztemperatur in der gehopften Bierwürze bei No. 1 bis 40° C, bei No. 9, 10 und 15 bis 35° C, und zwar sogar bei schwacher Einsaat, bei No. 16 bis 30° C; bei No. 2 liegt sie schon bei 25° C. In neutralem Hefezuckerwasser geht sie bis



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Tabelle I.**
**Grenztemperaturen für die Entwickelungsfähigkeit in gehopfter Bierwürze.**

| No. | 44° C Schwache u. starke Einsaat | 40° C Schwache Einsaat | 40° C Starke Einsaat | 35° C Schwache Einsaat | 35° C Starke Einsaat | 30° C Schwache Einsaat | 25° C Schwache Einsaat | 6° C Schwache Einsaat | + 0,5 bis — 2,0° C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **Erste Gruppe.** | | | | | |
| 3 | | | — | — | — [1]) | + | + | + | + |
| 4 | | | — | — | — [1]) | + | + | + | + |
| 6 | | | | — | — | + | + | + | + |
| 17 | — | | — [2]) | — | + | + | + | + | + |
| 11 | | | | — | — [1]) | + | + | + | — |
| 5 | | — | — | + | | + | + | + | — |
| 7 | | | | — | — | + | + | + | — |
| 8 | | | | — | — | — | + | + | + |
| | | | | **Zweite Gruppe.** | | | | | |
| 1 | — | + | | + | | + | + | + | — |
| 9 | — | — [3]) | — [4]) | + | | + | + | + | + |
| 10 | — | — | — | + | | + | + | + | — |
| 2 | | | | — | — | — | + | + | + |
| 15 | | — | — | + | | + | + | + | + |
| 16 | | | | — | — | + | + | + | + |
| | | | | **Dritte Gruppe.** | | | | | |
| 12 | | — | — | + | | + | + | + | — |

Die eingesetzten Daten sind das Ergebnis wiederholter Untersuchungen.

1) Nur Wärmestarre. Nach Verbringung der Kulturen zu 20° C nach 5 Tagen Hautbildung und mäßige Absätze.

2) Bei 20° C nach 6 Tagen geringe Entwickelung von Torula 17

3) Bei 20° C nach 5 Tagen mäßiger Absatz aus Zellen von No. 9

4) Desgl. nach 6 Tagen. Kräftige Zellen

**Tabelle II.**
**Grenztemperaturen für die Entwickelungsfähigkeit in neutralem Hefezuckerwasser.**

| No. | 45° C Schwache Einsaat | 45° C Starke Einsaat | 40° C Schwache Einsaat | 40° C Starke Einsaat | 35° C Schwache Einsaat | 35° C Starke Einsaat | + 0,5 bis — 2,0° C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Erste Gruppe.** | | | | |
| 3 | — | — | + | + | + | + | + |
| 4 | — | — | + | + | + | + | + |
| 6 | | | — | — | — | — | + |
| 17 | | | — | — | + | + | + |
| 11 | | | — | — | — | + | + |
| 5 | | | — | — | + | + | + |
| 7 | | | — | — | — | — | — |
| 8 | | | — | — | — | — | + |
| | | | **Zweite Gruppe.** | | | | |
| 1 | — | — | + | + | + | + | — |
| 9 | — | — | + | + | + | + | + |
| 10 | — | — | — | + | + | + | — |
| 2 | | | — | — | — | — | + |
| 15 | | | — | — | — | + | + |
| 16 | | | — | — | — | — | + |
| | | | **Dritte Gruppe.** | | | | |
| 12 | | | — | — | — | — | — |

Die eingesetzten Daten sind das Ergebnis wiederholter Untersuchungen

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

40° C selbst für schwache Einsaat bei No. 1 und 9, bei starker Einsaat auch noch bei No. 10, bis 35° C bei starker Einsaat bei No. 15. Bei No. 2 und No. 17 liegt sie unterhalb 35° C.

Der einzige der dritten Gruppe zugewiesene Organismus No. 12 entwickelte sich auffälligerweise in neutralem Hefezuckerwasser bei 35° C nicht mehr, während ein Wachstum sogar bei schwacher Einsaat noch in der gehopften Bierwürze stattfand.

Die Ergebnisse des bei der niedrigsten Temperatur durchgeführten Versuchs sind, soweit sie die gehopfte Bierwürze und das neutrale Hefezuckerwasser betreffen, zwar schon in die beiden Tabellen I und II eingesetzt, sie wurden aber des Vergleiches wegen vereint mit den an dem Reinhefebier über die Entwickelungsfähigkeit der Organismen gemachten Beobachtungen nochmals in der folgenden Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Entwickelungsfähigkeit bei Temperaturen von + 0,5° bis — 2,0° C.

| No. | Gehopfte Bierwürze | Reinhefebier | Neutrales Hefezuckerwasser |
|---|---|---|---|
| | Erste Gruppe. | | |
| 3 | + | — | + |
| | (+) | (—) | (+) |
| 4 | + | — | + |
| | (+) | (—) | (+) |
| 6 | + | — | + |
| | (+) | (—) | (+) |
| 17 | + | + | + |
| | (+) | (+) | (+) |
| 11 | — | — | + |
| | (+) | (+) | (+) |
| 5 | — | — | + |
| | (+) | (+) | (+) |
| 7 | — | — | — |
| | (+) | (—) | (+) |
| 8 | + | — | + |
| | (+) | (—) | (+) |
| | Zweite Gruppe. | | |
| 1 | — | — | — |
| | | (+) | (+) |
| 9 | + | — | + |
| | (+) | (+) | (+) |
| 10 | — | — | — |
| | (+) | (+) | (+) |
| 2 | + | — | + |
| | + | (+) | + |
| 15 | + | + | + |
| | (+) | (+) | (+) |
| 16 | + | + | + |
| | + | (+) | + |
| | Dritte Gruppe. | | |
| 12 | — | — | — |
| | (+) | (—) | (+) |

+ = Wachstum. — = Kein Wachstum.
(+) = Die Parallelkultur bei 20° C Wachstum.
(—) = Die Parallelkultur bei 20° C nach 26 Tagen kein Wachstum.
Die unbeimpften Kontrollproben des Reinhefebieres zeigen bei Abschluß des Versuches nur einen mäßigen Absatz von Kulturhefe.

Zunächst ist zu bemerken, daß es bei Abschluß des Versuches bei solchen Kulturen, welche nicht ohne weiteres eine Vermehrung erkennen ließen, sehr schwierig war zu bestimmen, ob eine Vermehrung stattgefunden hatte oder nicht. Als „gewachsen“ wurden alle diejenigen

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen bezeichnet, in welchen sich offenbar neu entstandene Sproßverbände in größerer Anzahl und gutem Zustand und nicht vereinzelt (der Einsaatmenge entsprechend) mit sichtlich hungernden Zellen vorfanden. Möglicherweise waren zwar auch in diesem Falle einzelne Zellen neugebildet worden, eine ausgiebige Vermehrung hatte jedoch nicht stattgefunden.

Das Hefezuckerwasser, welches bei der Beimpfung klar und nahezu absatzfrei war, ließ viel leichter schon makroskopisch beurteilen, ob eine Vermehrung stattgefunden hatte oder nicht.

In den Kulturen mit Reinhefebier fanden sich bei Abschluß des Versuches mäßige Absätze von Kulturhefe wie in den Kontrollproben.

Ein Vergleich der 3 Versuchsreihen untereinander bringt bei den niederen Temperaturen, wenn auch nicht in dem gleichem Grade wie bei den höheren, ebenfalls ein Uebergewicht des neutralen Hefezuckerwassers über die gehopfte Bierwürze zum Ausdruck. Am ungünstigsten für die Entwickelung war jedenfalls das Reinhefebier, eine Tatsache, die von praktischer Bedeutung für den Brauereibetrieb ist, insofern sie lehrt, daß bei den niederen Temperaturen des Lagerkellers die überwiegende Mehrzahl der vorliegenden Organismen, wenn sie als Infektion im Bier vorhanden sein sollte, nicht aufkommen kann. Wenn auch, wie die Gegenprobe bei 20° C erwies, nicht alle Zellen tot waren, so konnten sie sich doch nicht vermehren; sie waren entweder in Kältestarre übergegangen oder sie wurden durch die Gegenwart der Bierhefe an der Entwickelung gehindert. Diese scheint nämlich, wie in der I. Mitteilung dargelegt wurde, auch dann noch ein Hemmnis für die untersuchten Organismen zu sein, wenn die Gärtätigkeit schon sehr stark vermindert ist. Dagegen vermögen die meisten in möglichst hefefreiem Bier mit dem gewöhnlichen Alkoholgehalt bei Luftzutritt zu wachsen.

Bis zu welchem Grade die Entwickelung bei den noch vermehrungsfähigen Organismen während der Versuchsdauer vorgeschritten war, soll für die einzelnen Versuchsreihen noch besonders ausgeführt werden. In der ersten Gruppe war bei No. 11 und 5 die untere Temperaturgrenze für die Entwickelung in gehopfter Würze und bei No. 7 sowohl in gehopfter Würze wie in neutralem Hefezuckerwasser erreicht.

In Reinhefebier wuchs nur mehr Torula No. 17.

In der zweiten Gruppe vermehrte sich No. 1 und 10 in neutralem Hefezuckerwasser und in gehopfter Bierwürze nicht mehr, in Reinhefebier entwickelte sich dagegen nur No. 15 und 16.

Von den 14 Arten ist also für verhältnismäßig sehr wenige die untere Grenze der Vermehrungsfähigkeit bei den gegebenen Temperaturen erreicht (bei 4 Arten in allen geprüften Nährflüssigkeiten, bei 6 in gehopfter Bierwürze, bei 4 in Hefezuckerwasser), für diese bietet sie aber umsomehr ein brauchbares diagnostisches Merkmal.

In Reinhefebier vermochten sich unter den bestehenden Verhältnissen nur noch 3 Arten zu entwickeln.

Bei Temperaturen zwischen 20 und 25° C geht in gehopfter Bierwürze die Vermehrung fast sämtlicher Organismen am besten vor sich; bei 30° C ist im Laufe der Zeit allgemein ein auffälliges Zurückbleiben der Kulturen festzustellen. Für No. 6 und 8 scheint die Optimaltemperatur um 20° C zu liegen, während sie für No. 7, 12 und 15 um 25° C liegt.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Einfluß auf die Wachstumserscheinungen und auf die auftretenden Zellformen.

Die Zeit, nach Verlauf welcher bei Temperaturen zwischen 20° und 30° eine Vermehrung der Einsaat sich äußerlich bemerkbar machte, war in den meisten Fällen eine sehr kurze; sie betrug in der ersten Gruppe bei No. 3 + 4, 11 und No. 5 nur 2 Tage. Bei No. 6 sind für 20° C 2 Tage, für 25° C 7 Tage und für 30° C 30 Tage verzeichnet, bei No. 17 für 20—25° C 2 Tage, für 30 und 35° C 11 Tage. No. 7 vermehrt sich bei allen Temperaturen sehr langsam und ist äußerlich ein Wachstum sehr schwer zu kontrollieren. No. 8 zeigte bei 20° C nach 2 Tagen, bei 25° C nach 4 Tagen eine Vermehrung.

In der zweiten Gruppe machte sich bei 20—30° C eine Vermehrung bei No. 1, 9, 10 und 2 nach 2 Tagen bemerkbar, bei No. 15 bei 20° C nach 4 Tagen, bei 25—30° C nach 2 Tagen, bei No. 16 bei 20—25° C nach 2 Tagen, bei 30° C erst nach 30 Tagen.

No. 11 hatte sich bei 35° C nach 3 Tagen, bei 40° C nach 11 Tagen so weit entwickelt, daß die Vegetation äußerlich wahrgenommen werden konnte; bei No. 9 und 10 war dies bei 35° C nach 5 Tagen der Fall.

No. 12 zeigte bei 35° C schon nach 3 Tagen eine reichliche Vegetation.

Bei 13° C konnte in der Mehrzahl der Kulturen schon am vierten Tage eine Vermehrung festgestellt werden; eine Ausnahme machte No. 6 und 7 der ersten Gruppe mit 7 Tagen und von der zweiten Gruppe No. 1 mit 7 Tagen und No. 2 mit 2 Tagen.

Bei 6° C betrug diese Zeit nur für No. 17 30 Tage; für alle übrigen 7 Tage.

Die Vermehrung ist also im allgemeinen bei den höheren Temperaturen eine verhältnismäßig starke.

Die Wachstumserscheinungen in gehopfter Bierwürze boten in der ersten Gruppe bei den einzelnen Organismen und sämtlichen Temperaturen bis 0°, bei welchen eine Entwickelung überhaupt noch stattfand, im allgemeinen das gleiche Bild. Dabei wurde die Versuchsdauer auf einen Zeitraum von $1^1/_2$—4 Monate ausgedehnt und blieben die Kulturen möglichst ruhig stehen.

Fast in allen Kulturen fand sich bei Abschluß der Versuche entweder Haut- und Ringbildung oder eins von beiden vor. Vielfach war die anfangs entwickelte Haut zu Boden gesunken, und vermehrte sich dann die Oberflächenvegetation ausschließlich oder nahezu ausschließlich in Form eines Ringes längs des Flüssigkeitsrandes. Bei 6° C war überhaupt keine Oberflächenvegetation bei No. 3 + 4, 6, 17 sowie 15 vorhanden, nur in Form eines Ringes bei No. 8. Erstere hatten sich hier am Boden der Kulturgefäße, wie das überhaupt bei fast allen Organismen, welche sich noch bei den Temperaturen von +0,5° bis —2,0° C vermehren, der Fall ist, entwickelt.

Die Kulturen von No. 17 enthielten bei 35° C nur mäßige Absätze von kräftigen normalen Zellen.

Bei 30° C hatte No. 6, 7 und 11, bei 25° C No. 8 nur mehr einen schwachen Ring bilden. Im übrigen war bei No. 7 die Haut und der Ring immer von schleimiger Beschaffenheit.

Die auftretenden Zellformen werden bei den Organismen dieser Gruppe im allgemeinen durch die Temperatur nur wenig beeinflußt, insbesondere ist dies bei den typischen Torula-Arten No. 3 + 4, 6 und 17 der Fall; nur bei No. 6 fanden sich ohne Regelmäßigkeit wurstförmige Zellen vor.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei No. 5 traten Sproßverbände langgestreckter Zellen bei den niederen Temperaturen (von 20° C ab) zurück; bei den höheren sind sie dagegen in größerer Zahl und zwar hauptsächlich im Absatz vorhanden. Die Zellen aller Kulturen enthielten neben Oelkörperchen noch Kristalloide in den Vakuolen. Bei Temperaturen von 20—6° C wurde die Würze fadenziehend.

Bei No. 8 enthielt der bei 20—13° C entstandene Absatz nicht selten wurstförmige Zellen, während die Zellen der gelblich-weißen Haut sehr gleichmäßig waren. Bei 6° C war die Zellform mannigfaltiger: apiculatus- und keulenförmig; außerdem fanden sich Sproßverbände gestreckter Formen vor, wobei einzelne Zellen eine Länge bis zu 50 $\mu$ erreichten. Der Zellinhalt war bei allen Temperaturen gleich und fehlten Oelkörperchen.

In der zweiten Gruppe der Organismen kommt es bei No. 1 bei allen Temperaturen, bei welchen sich diese Art noch entwickelt, mindestens zur Bildung eines Ringes, meist aber auch einer Haut. Bei den höheren Temperaturen tritt die Hautbildung zurück. Uebereinstimmend besteht bei allen Temperaturen der Ring und die Haut vorherrschend aus kugelförmigen, zuweilen auch ellipsoidischen Zellen mit 1 Oelkörperchen. Ein Einfluß der Temperatur auf das Vorherrschen bestimmter Zellelemente kommt also nicht zur Geltung, dagegen ein solcher der unmittelbaren Berührung der Zellen mit der Luft. In allen Fällen fanden sich Riesenzellen vor. Mycoderma-ähnliche, gestreckte Zellformen mit bis zu 3 Oelkörperchen ($9 \mu : 2 \mu$) sind im Ring und in der Haut in geringer Zahl vorhanden. Im Absatz kommen neben den vorherrschenden rundlichen Zellen zahlreiche große Sproßverbände sehr langgestreckter, dünner Zellen vor.

Die Vermehrung ist im Vergleich zu den übrigen Organismen bei 6° C eine auffällig geringe.

Bei No. 9 beschränkt sich bei den höchsten und bei den niederen (bis 13° C) Temperaturen die Oberflächenvegetation auf Ringbildung; bei den niedersten fehlt auch diese. Abgesehen von den niedersten, um 0° sich bewegenden Temperaturen, bei welchen sich nur kugelförmige und ellipsoidische Zellen vorfanden, sind die Zellen nach Form und Größe bei allen geprüften Temperaturen gleichmäßig. Zwischen den einzelnen Kulturen traten regellos individuelle Verschiedenheiten derart auf, daß in der einen ellipsoidische, in der zweiten gestreckt-ellipsoidische, Mycoderma-ähnliche Zellen vorherrschten.

Bei No. 10 bestand hinsichtlich der äußeren Erscheinungen, abgesehen von der Temperatur von 20° C und 6° C, völlige Uebereinstimmung bei allen Kulturen. Immer ist eine mehr oder minder starke Ringbildung vorhanden, die nur bei 6° C fehlt; bei 20° C tritt zu dieser noch Hautbildung. Ebenso bestand hinsichtlich der auftretenden Zellformen im allgemeinen Uebereinstimmung. Im Ring sind wieder kugelförmige und ellipsoidische Zellen vorherrschend, und traten gestreckte Zellformen zurück. In den Hautinselchen der bei 20° C stehenden Kulturen fanden sich dagegen sehr reichlich Sproßverbände langgestreckter Zellen. In den Absätzen kamen nur wenige langgestreckte Zellelemente vor. Vorherrschend waren ellipsoidische und gestreckt-ellipsoidische.

(Fortsetzung folgt.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Pseudovakuolen in Hefezellen.

Von **J. J. van Hest.**

Mit 4 Figuren.

(Schluß.)

Betrachten wir danach noch einen Augenblick die Vakuolen als Bestandteile oder Organe der Hefezellen, dann wirft sich uns unmittelbar die Frage auf: Warum ist sie dann nur bei einer kleinen Anzahl Zellen in Reinkulturhefen sichtbar und warum steigt diese Anzahl in denselben Hefesorten manchmal so hoch? Würde man behaupten, daß die Vakuolen als Organe immer in den Hefezellen anwesend sind, daß sie aber nur unter besonderen Umständen für uns sichtbar werden, dann würde man diese Behauptung nur mit sehr wenigen Beweisen aufrecht erhalten können. Würden sie als Turgor Dienst tun müssen, so als man glaubt, daß sie bei älteren Pflanzenzellen tun — bei jungen Pflanzenzellen besteht der Turgor doch schon, ehe Vakuolen darin sichtbar geworden sind — dann üben sie bei Bierhefezellen ihre Arbeit in umgekehrter Richtung aus. Bei Hefezellen ohne Vakuolen ist die Zellmembran straff gespannt, währenddem bei Hefezellen mit Vakuolen die Membran schlapp und hier und da eingefallen um den Zellinhalt liegt. Außerdem ist es befremdend, daß ein Organ eines lebenden Wesens, welches Spannung in die Zelle bringen muß, so zahlreichen Formveränderungen ausgesetzt ist, wie wir sie bei den Vakuolen beobachten. Man ist hier geneigt zu glauben, daß ein Organ, welches die Spannung in der Zelle besorgen muß, in erster Linie im stande sein müßte, seine eigene Wand gespannt zu halten. Da es dies aber nicht tut, kam ich zu der Ansicht, daß die sogenannten Vakuolen keine notwendigen Organe in der wahren Bedeutung des Wortes sein können.

Eine andere Frage ist die: Können die Vakuolen durch Zusammensetzung des Protoplasmas entstehen, wodurch sie auf einigen Stellen die Membran loslassen? Wenn sich das Protoplasma unter gewissen Umständen auf einen gewissen Punkt der Zelle zusammenzöge, dann würde doch keine Trennung zwischen Protoplasma und Membran stattfinden, weil die dünne Membran mit dem Protoplasma mitginge und da einen Eindruck oder eine Abplattung bilden würde. Auf diesem Wege würde die Abplattung der Zelle bequem erklärt werden können, wenn dem, von einer anderen Seite betrachtet, nicht so viel gegenüberstände.

Vorerst ist, zufolge einiger Autoren, der Raum zwischen Protoplasma und Zellmembran mit Zellsaft gefüllt, was ungefähr dasselbe wäre wie Plasmolyse; aber darin unterscheiden sich die Vakuolen doch allzusehr. Ferner enthält der Zellsaft Wasser; färbt man die Hefezellen mit einem Anilinfarbstoff, dann wird auch der Zellsaft gefärbt werden, mit dem übrigen Teil der Zelle einen homogen gefärbten Körper bilden und nicht mehr zu sehen sein; doch so wie wir sahen, bleibt die Abplattung der Zelle nach der Färbung bestehen.

Eine weitere Frage ist die: Wenn sich das Protoplasma zusammenzieht, also kleiner an Volumen wird, geschieht dies dann durch Ausstoßung fester oder flüssiger Stoffe oder zieht es sich zusammen, wie

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Metall bei niederen Temperaturen? Im ersten Falle würde es nur eine gegenseitige Platzverwechselung in der Zelle sein, im zweiten Falle würde der Inhalt der Zelle kleiner und müßte dieser von außen angefüllt werden oder die Zellmembran müßte kleiner werden. Wenn nun die Zellmembran sich im ganzen zusammenziehen kann, dann wird sie gespannt um den Zellinhalt bleiben, tut sie dies jedoch nicht, dann wird sie auf der einen oder anderen Stelle nach innen fallen. Wie bequem die Zellmembran nach innen fallen kann und als ein dünnes Fell in allerlei Formen und Falten lose um den festeren Stoff des Zellinhalts liegt, zeigt sich am deutlichsten, wenn man durch Ausschleudern der Hefe (16) in einem englischen ledernen Säckchen die Zellfeuchtigkeit großenteils entfernt. Die Hefezellen haben dann ihre gewöhnliche Form verloren und liegen als formlose Häufchen beieinander. Von Turgor anbringenden Vakuolen ist jedoch keine Spur zu finden. Wären die Vakuolen doch wirklich da, dann ist es klar, daß der Tonoplast nicht impermeabel, sondern permeabel ist wie die Zellmembran, oder die mit Zellsaft gefüllten Vakuolen müßten noch sichtbar gewesen sein. Verlust an Zellsaft hat also ein Einfallen der Zellmembran zur Folge. Dieser Verlust an Zellsaft kann jedoch die Ursache der Abplattungen nicht sein, weil die Zellen, in wässeriger Lösung liegend, also ohne Mangel an Wasser, ebenfalls die Abplattungen besitzen. Viel eher müßte an eine Verminderung des Zellinhaltes gedacht werden, welcher nicht durch Wasser ausgefüllt werden kann. Diese Abnahme an Volumen würde entstehen können durch eine Formveränderung des Protoplasmas, wodurch an der einen Seite der Hefezelle Flüssigkeit nach außen gedrückt wird, welch letztere an der anderen Seite nicht angefüllt werden kann. Zweitens scheint es mir nicht unmöglich, daß seitlich feste Stoffe fehlen, deren Platz nicht durch Wasser ausgefüllt werden kann. Es ist schon bekannt, das Zymase und Glykogen in wechselnden Mengen in Hefezellen anwesend sind. Ebenso wissen wir, daß der Zellkern nach der Teilung kleiner ist als vor der Teilung; ferner, daß der Unterschied an Stickstoffgehalt der Hefezellen 25—40 Proz. betragen kann. Da nun dieser Wechsel innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit stattfindet, liegt es auf der Hand, daß die Größe der Membran ungefähr dieselbe bleiben wird und daß die Abnahme an festem Stoff (Trockensubstanz) in den Zellinhalt vor sich geht. Außerdem braucht die Stickstoffabnahme in der Hefe nicht gleichzeitig in allen Zellen stattzufinden. Zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes in der Hefe nehmen wir 300—400 Millionen Zellen, und das Resultat liegt im Durchschnitt dieser Anzahl Zellen. Es ist immerhin sehr gut möglich, daß ein Teil der Zellen seinen normalen Stickstoffgehalt behält und ein anderer Teil einen großen Verlust aufweist. In den Hefekolonieen von Malzgelatineplatten ist der Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz 6,35 Proz., während dieselbe Hefe, unter gewöhnlichen Umständen in Bierwürze geführt, 9—10 Proz. Stickstoff enthält. Sät man in 2 l gut gelüfteter Bierwürze, welche zuvor steril gemacht ist, 1—10 Zellen dieser Hefesorte, dann enthält die Nachkommenschaft (Hefeernte) nur 6 Proz. Stickstoff in der Trockensubstanz. Bei diesen zwei Versuchen wurde jeder Zelle der ausgesäten Hefe viel Nahrung, Raum und Luft gegeben, wodurch eine enorme Vervielfältigung der Hefe stattfand, deren Hefeernte jedoch ungefähr 40 Proz. weniger Stickstoff enthielt, als sie unter gewöhnlichen Umständen (in der Brauereipraxis) hat.

Kehren wir nun zu unserem Ausgangspunkt zurück, dann ist es

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

doch klar, daß eine Abnahme von 40 Proz. der festen Bestandteile des Zellinhaltes auch eine Abnahme des Zellinhaltes zur Folge haben kann.

Man kann sich vorstellen, daß stickstoffhaltige Stoffe, welche an einem oder dem anderen Teil der Zellmembran anliegen, durch ein mehr im Zentrum der Zelle gelegenes Organ aufgebraucht werden. In diesem Falle wandern die stickstoffhaltigen Stoffe von der Wand der Zellmembran weg nach innen. Wird nun dieser Vorrat an Stickstoff nicht direkt angefüllt, dann kann es sehr gut möglich sein, daß die Wand der Zellmembran den leergewordenen Raum einnimmt, weil sie nicht genug Kraft besitzt, um dem negativen Druck von innen und dem positiven Druck der sie umgebenden Flüssigkeit Widerstand bieten zu können. Nach obigen Betrachtungen würde die Sache also darauf hinauslaufen, daß nun der Zellinhalt kleiner, die Zellmembran zu groß geworden ist. Bei früheren Untersuchungen (17) ist das Kleinerwerden der Zellen bei fortgesetzter Kultur mit Luftdurchfuhr während der Gärung auch tatsächlich bewiesen. Durch 2 hl mit Hefe angestellter Würze wurde jeden Tag eine Viertelstunde lang Luft durchgeführt. Jede Woche wurde das ausgegorene Bier abgelassen und zu der zurückbleibenden Hefe wurden aufs neue 2 hl frischer steriler Würze gebracht. Dies geschah aufeinanderfolgend 5mal, und nun zeigte sich, daß bei der fünften Gärung 24 Proz. Zucker weniger vergoren waren, als bei der ersten. Die Hefezellen wurden nach jeder Gärung kleiner und nach Schätzung war ihr Volumen nach der fünften Gärung bis auf die Hälfte zurückgebracht. Eine andere Frage, welche mich oft in Zweifel versetzte, ist folgende: Sind die Vakuolen, oder seien es Abplattungen, alle gleichartig; kann es nicht eine Mischung sein von Zellen mit Vakuolen und Zellen mit Abplattungen? Die Untersuchungen über diesen Gegenstand, welche in oft wiederholtem Betrachten verschiedener Hefen unter dem Mikroskop bestanden, fielen immer zu Gunsten der Abplattungen aus. Trotzdem traf ich manchmal einige Zellen an, bei denen es äußerst schwierig wurde, einen Schluß zu ziehen. Bringt man Strömung in das mikroskopische Präparat, dann sieht man manchmal Zellen durch das Gesichtsfeld rollen und schweben, welche uns zu der Meinung bringen, daß dieselben weder Vakuolen noch Abplattungen besitzen, sondern daß dicht an einer der langen Zellwände ein mehr oder minder rundes, dünnes Scheibchen oder Plättchen sitzt. Die Zeit, welche man zu einer derartigen Wahrnehmung hat, ist jedoch so kurz, daß man sich keine Rechenschaft davon geben kann, ob man es hier mit einem falschen Lichteffekt zu tun hat oder nicht.

Die Frage, ob die Abplattung durch Mangel an Spannung in der Hefezelle entstehen kann, muß meines Erachtens verneinend beantwortet werden. Spannung von Gasen in Zellen ist aus verschiedenen Gründen zweifelhaft. Dessenungeachtet herrscht doch Spannung in den Hefezellen, aber diese Spannung übt nur indirekt oder an zweiter Stelle Druck auf die Wände der Zellmembran aus. Wenn man Hefe in einem englischen ledernen Säckchen langsam ausschleudert oder in einem Tuch auspreßt, bis die sie umgebende Feuchtigkeit entfernt ist, dann sehen solche Zellen unter dem Mikroskop noch gut gefüllt aus, so daß man annehmen darf, daß das Wasser, welches sie nun noch enthalten, zu ihrem Körperwasser gehört. Dieses Wasser beträgt durchschnittlich 75 Proz., woraus folgt, daß die Hefezelle — d. h. gewaschene Betriebshefe einer Brauerei — aus 25 Proz. Trockensubstanz und 75 Proz. Wasser besteht. Stellt man sich vor, daß dieses Wasser durch die Zellmembran beisammen gehalten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird, in welchem die festen Bestandteile des Zellinhaltes frei die Membran umschweben, dann würde der Druck, der auf die Wände ausgeübt wird, ziemlich groß sein. Denkt man sich jedoch die Zellmembran als eine hohle Kugel, ganz gefüllt mit einem äußerst feinen, porösen Gewebe mit zahllosen, feinen Haarröhrchen, Gefäßbündeln und Poren, welche mit Wasser gefüllt sind, dann wird der Druck auf die Wände der Zellmembran sehr gering sein. Die Spannung in der Hefezelle kann deshalb wohl groß sein, aber der Druck dieser Spannung wird meines Erachtens auf die Wände des inneren Gewebes oder der Organe der Hefezellen ausgeübt und die Membran liegt da mehr oder minder straff gespannt herum. Daß das Körperwasser durch ein organisches Gewebe festgehalten oder umschlossen ist, welches in seinem normalen Zustand, d. w. s., wenn kein Mangel an Wasser ist, den ganzen Raum der Zellmembran ausfüllt, leitete ich aus der früher schon mitgeteilten Untersuchung ab (16). Das Ausschleudern der Hefe in einem Säckchen kann man so lange fortsetzen, bis die Hefe als ein trockenes, weißes Pulver zurückbleibt. Betrachtet man diese Hefe unter dem Mikroskop, so sieht man die meisten Hefezellen als formlose Häufchen beieinander liegen. Bringt man ferner ein wenig Wasser in ihre Nähe, dann nehmen sie augenblicklich ihre gewöhnlichen Formen wieder an. Dieses geht jedoch so erstaunlich schnell, daß es nicht anders möglich ist, als daß hier entweder eine sehr große oder enorm zahlreiche kleine Kräfte mithelfen müssen, um eine solche Wirkung hervorbringen zu können. Wäre die Zellmembran eine leere Umhüllung, worin die festen Organe da oder dort frei an der Wand lägen, dann wäre eine derartige Kraftentwickelung unmöglich; würde die Spannung in den Zellen (der Turgor) durch Vakuolen hervorgebracht, deren Tonoplasten beinahe impermeabel sein sollen, dann könnte dieselbe ganz unmöglich so rasch vor sich gehen und dann wäre es mit der großen Anzahl Zellen, welche keine Vakuolen zu ihrer Verfügung haben, traurig bestellt, da sie bei Abwesenheit dieses Organes, welches ihnen den Turgor besorgen muß, als formlose Häufchen liegen bleiben müßten. Aber davon ist keine Rede, denn die Zellen ohne Vakuolen springen ebenso schnell auf, wie diejenigen mit Vakuolen, d. h. wie diejenigen Zellen, welche nach Aufschlürfung von Wasser Vakuolen besitzen. Das Wahrscheinlichste ist also, daß der ganze Raum der Hefezelle mit einer fein organisierten organischen Substanz gefüllt ist, welche als Skelett Dienst tut. Dieses Skelett besitzt durch seine feinen Kanälchen und Poren ein enormes Aufschlürfungsvermögen, wodurch es ganz mit Wasser gefüllt wird und dann gleichzeitig seine Kraft und Festigkeit entlehnt. Ist es wasserfrei, dann fällt es wie ein Kartenhaus ineinander; mit Wasser gefüllt, hat jedes kleinste Organe ein gewisses Widerstandsvermögen bekommen, wodurch zugleich das ganze Skelett Form und Größe erhält. Nehmen wir weiter an, daß die Form der Hefezelle die Form des Zellinhaltes ist und daß sich die dünne Membran nach der Form des Zellinhaltes richtet, dann spricht es von selbst, daß da, wo der Umfang des Skelettes aus dem einen oder anderen Grunde nicht seine normale Form besitzt, dieselbe Abweichung auch in der Form der Haut sichtbar sein müßte. In den Fällen nun, in welchen 25—40 Proz. der Trockensubstanz des Skelettes fehlen, wird das Skelett kleiner sein, und wenn nun, so wie es höchst wahrscheinlich in Wirklichkeit auch ist, der fehlende Teil einen gewissen Platz an dem Umfange des Skelettes einnahm, dann wird da eine Formveränderung des Skelettes stattfinden und wird auch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Zellmembran diese veränderte Form annehmen. So wie eine abgeplattete hölzerne Kugel stets mit der platten Seite nach oben liegt, wird auch die Hefezelle mit der Seite, auf der die Trockensubstanz fehlt, nach oben liegen, und nach meiner Meinung das Bild zeigen, von dem hier die Rede war, nämlich die Abplattung.

Durch vorstehende Untersuchungen kam ich zu den folgenden Schlüssen:

1) Daß man die Beleuchtung an den Mikroskopen so regeln kann, daß man die niederen Organismen en relief betrachten kann.

2) Daß der Zellinhalt von Reinhefe (global genommen) aus einem freien organischen Gewebe besteht, das eine ovale oder Kugelform besitzt; ohne Wasser fällt das Gewebe als ein Häufchen zusammen, durch Aufschlürfung von Wasser bekommt es, ebenso wie krautige Pflanzenteile, Festigkeit und Steifheit (Turgor) genug, um seine Kugelform aufrecht zu erhalten. Um den kugelförmigen Zellinhalt liegt die Zellmembran wie ein dünnes Fell lose herum und folgt passiv jeder Formveränderung des Zellinhaltes.

3) Die Form des Zellinhaltes kann durch eine zeitliche Abwesenheit von Trockensubstanz, abgesehen davon, ob es ein pathologischer Zustand ist oder nicht, abgeplattet sein, und weil die Membran da nicht mehr unterstützt wird, nimmt auch diese die Abplattung an.

4) Die Vakuolen in Hefezellen sind, wenn auch nicht alle, so doch mindestens 99 pro Mille davon Pseudovakuolen.

### Literatur.

1) Pasteur, Etudes sur la bière. 1876. p. 337.
2) Raum, Zeitschr. f. Hygiene. 1891. p. 1. Ref. in Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1891. p. 273.
3) Hieronymus, Ber. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XI. 1893. Heft 2 und Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1893. p. 345.
4) Dangeard, Compt. rend. T. CXVII. 1893. No. 1. p. 68 und Ref. von H. Will, Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen, 1894. p. 14.
5) Wager, Annals of Botany. 1898. p. 499.
6) Guilliermond, M. A., Compt. rend. 1891. p. 242 und Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1902. p. 121.
7) Klöcker, Alb., Die Gärungsorganismen. Stuttgart (Max Waag) 1900. p. 155.
8) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 1904. p. 155. 1. Lieferung.
9) van Hest, Wochenschr. f. Brauereien. 1905. p. 105.
10) van Leeuwenhoek, 116. Brief an Royal Society vom 12. Januar 1689. p. 100.
11) Duclaux, Traité de microbiologie. T. III. 1900. p. 608.
12) de Vries, H., Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XIV. 1884.)
13) Swellengrebel, N. H., Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Preßhefe. (Centrabl. f. Bakt., Par. und Inf. Abt. II. 1905. p. 374.)
14) Migula, Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der techn. Hochschule in Karlsruhe. Bd. I. 1904.
15) van Hest, Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXVI. 1903.
16) —, Wochenschr. f. Brauereien. 1903. No. 51.
17) —, Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXVI. 1903.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Ueber die Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien.

[Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der Neu-russischen Universität zu Odessa.]

Von Prof. **A. J. Nabokich** und **A. F. Lebedeff** in Odessa.

Mit einer Figur.

Dr. Hermann Kaserer hat im vorigen Jahre eine vorläufige Mitteilung[1]) veröffentlicht, in welcher er die Beweise für die Möglichkeit der Oxydation des Wasserstoffes durch die Bakterien zu liefern versuchte. Die Experimente des genannten Autors waren folgendermaßen ausgeführt: Es wurden für jeden Versuch je zwei Einhornsche Gärkölbchen mit mineralischer Nährlösung am Boden und mit kohlensäurehaltigem Wasserstoff im zugeschmolzenen Meßschenkel genommen; durch den offenen Schenkel beider Kölbchen war freier Zutritt des Luftsauerstoffes ermöglicht. Eines von den Kölbchen sollte mit Bodenpartikelchen beimpft sein, das andere zwecks Kontrolle steril gelassen werden. Autor schlägt vor, beide Kölbchen in der ganzen Versuchsdauer vergleichsweise zu beobachten, den Stand der Nährlösung im Wasserstoffschenkel notierend. Seiner Meinung nach könnte die stärkere Verkleinerung des Gasvolumens im beimpften Kölbchen beachtenswerte Angaben über den Verbrauch des Wasserstoffes durch Bakterien liefern. „Anfänglich", schreibt Dr. Kaserer, „nimmt das Gasvolumen in beiden Gärkölbchen um gleichviel ab, es diffundiert nämlich durch die Flüssigkeit mehr Wasserstoff hinaus als Luft hinein. Aber schon nach einigen Tagen findet man, daß das Volumen im Kontrollkölbchen nahezu konstant bleibt, im beimpften Kölbchen dagegen abnimmt. Die Zeit, binnen welcher das Abnehmen eintritt, ferner die Menge des verschwundenen Gases variiert bei den einzelnen Versuchen außerordentlich und scheint von Umständen abzuhängen, die mir teilweise noch nicht bekannt sind" (1. p. 791).

Für die kritische Schätzung dieser Beobachtungen ist wichtig, zu erwähnen, daß Dr. Kaserer für seine Bakterien dieselbe streng mineralische Nährlösung mit Chlorammonium gebrauchte, welche bis jetzt speziell für Züchtung der Nitritbildner benutzt wurde (2. p. 574). Absolut sichere Reinzucht der Wasserstoffbakterien konnte aber der Autor nicht erzielen (1. p. 792). Infolge seiner Vergleichsmethode konnte Kaserer auch keine quantitativen Gasuntersuchungen ausführen; es blieb ihm deswegen vollständig unbekannt, ob seine Bakterien wirklich Sauerstoff, Wasserstoff und Kohlensäure oder nur eines von diesen drei Gasen verbrauchten. Bezüglich der Stoffwechselprodukte war Kaserer auch in voller Unwissenheit geblieben. „Was aus Wasserstoff entsteht", schreibt Autor, „konnte ich mit Sicherheit bisher nicht feststellen. Da jedoch Sauerstoff zu den Kulturen Zutritt haben muß, wenn der Wasserstoff verschwinden soll, so nehme ich an, daß Wasser gebildet wird, um so mehr, als ich in der Lösung bisher nichts anderes nachweisen konnte" (1. p. 792).

Kaserer versichert, daß nach seinen Versuchen die Existenz der wasserstoffoxydierenden Bakterien als eine völlig erwiesene Tatsache zu betrachten ist (2. p. 574). Es scheint uns aber, daß die Frage von

1) 1. Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchsw. in Oesterreich. Bd. VIII. 1905. p. 789—793; 2. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. p. 573—576.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Oxydation des Wasserstoffes durch die Kasererscbe Untersuchung nur aufgestellt, aber nicht gelöst worden ist. In der gewählten Versuchsmethode waren alle Bedingungen geschaffen, welche stärkere Verkleinerung des Gasvolumens und gänzliches Verschwinden des Wasserstoffes in geimpften Kölbchen, ohne Beteiligung spezifischer Wasserstoffbakterien, hervorufen müßten: Der Wasserstoff — ein leicht diffundierendes Gas — hatte einen freien Weg nach außen gehabt; die Palladiumprobe konnte deswegen keine endgültigen Resultate liefern; die Kohlensäure konnte durch die Nitrifikationsorganismen verzehrt werden, der Sauerstoff aber, welcher als Luftbestandteil den Wasserstoff im Kolben nach und nach ersetzte, konnte natürlich nicht nur für den Nitrifikationsprozeß, sondern für die Atmung aller in der geimpften Flüssigkeit vorhandenen Organismen dienen. Es ist also ganz klar, daß die einzige Kasererscbe Beweistatsache — die unregelmäßige Verkleinerung des Volumens einer Gasmischung von vollständig unbekannter und variierender Zusammensetzung — die Aufstellung einer neuen Hypothese nicht rechtfertigen könnte. Wir wollen aber damit nicht sagen, daß die Kasererscbe Vermutung über das Vorhandensein spezifischer Organismen, welche Wasserstoff zu Wasser verbrennen und freie Kohlensäure assimilieren, keine Beachtung verdiene. Ganz umgekehrt, wir wollen unten nichts anderes als neues Beweismaterial für diese Hypothese mitteilen. Wir haben eine Nachprüfung der oben geschilderten Versuche Kaserers ausgeführt und sind jetzt von der Richtigkeit seiner Ideen überzeugt. Es sind aber von uns ganz andere Untersuchungsmethoden verwendet worden, welche keine zweideutigen Resultate liefern konnten. Wir hatten nämlich folgende Vorbedingungen für unsere Untersuchung ins Auge gefaßt:

Die Frage theoretisch betrachtend, kann man wohl mit Kaserer zulassen, daß bei der gesuchten Wasserstoffkonsumtion eine sozusagen leise physiologische Explosion des Knallgases stattfindet. Es schien uns deswegen wünschenswert, mit keiner anderen Gasmischung, als mit Knallgas zu arbeiten. Bei Auswahl der Nährlösung wollten wir ein wirklich elektives Substrat erzielen, um nitrifizierende Organismen vollständig auszuschließen. Es waren deshalb in der rein mineralischen Nährlösung Ammonsalze durch Nitrate ersetzt. In solcher Lösung konnten sich keine zur Zeit bekannten Mikroorganismen entwickeln.

Die dritte Vorbedingung war Auswahl eines solchen, möglichst großen Rezipienten, welcher keinen Austritt der gegebenen Gase nach außen oder umgekehrt von außen in den Kulturraum ermöglichte und doch eine reiche Entwickelung der Bakterien zuließ. Wir hatten auch nicht vergessen, daß in unserem Falle nur ein solcher Rezipient gebraucht werden konnte, welcher Luftdruck unter allen Umständen auszuhalten vermag. Es ist wohl verständlich, daß bei Entwickelung der Wasserstoffbakterien, welche Knallgas und Kohlensäure verbrauchen, im Kulturraum ein Vakuum entsteht. Dieser letzte Umstand gibt uns aber eine sehr einfache Methode in die Hand, die Menge der verbrauchten Gase genau zu bestimmen, was für unsere Untersuchung von großer Wichtigkeit ist. Bei passendem Rezipient konnten wir natürlich leicht das entstandene Vakuum mit sterilem Wasser ausfüllen und die Menge der verbrauchten Flüssigkeit genau ermessen. Wir wollten aber auch die quantitative Untersuchung unverbrauchter Gasreste ausführen; der Rezipient sollte uns deswegen auch bequeme Herausnahme der Gasproben zu beliebiger Zeit erlauben.

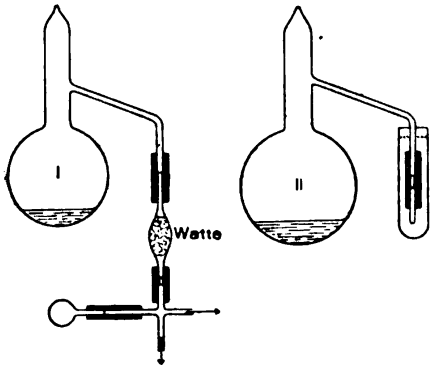
Alle erwähnten Anforderungen an den Rezipienten konnten leicht be-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

friedigt werden durch die Anwendung der Destillationskolben [1]), welche im Laboratorium einem von uns schon seit Jahren beim Studium des anaëroben Stoffwechsels verschiedener Organismen sehr gute Dienste geleistet haben. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt:

Es wurden runde Vakuumkolben von $^1/_2$—$1^1/_2$ l Kapazität mit einem rechtwinkelig nach unten gebogenen Seitenrohr verwendet.

Nach einer guten Auswaschung wurden die Kolben mit 100 resp. 150 ccm Nährlösung beschickt und sterilisiert. Die Lösung, bestehend aus 1000 ccm Wasser, 0,5 g $Na_2HPO_4$, 2,0 g $KNO_3$, 0,2 g $MgSO_4$, 1,0 g $NaHCO_3$ und etwas $Fe_2Cl_6$, reagierte schwach alkalisch (ca. 0,050 g $H_2SO_4$ auf 100 ccm der Lösung). Nach Beimpfung des Substrats mit Erdpartikelchen resp. mit Flüssigkeitstropfen von früheren Kulturen wurde der Hals der Kolben zugeschmolzen, das Seitenrohr aber durch Vakuumkautschuk mit der Pfeifferschen Oelpumpe in Verbindung gebracht. Diese Pumpe erlaubte uns, im Kolben binnen wenigen Minuten fast ein volles Vakuum zu erzielen, welches dann mit kohlensäurehaltigem Knallgase bis zum Atmosphärendruck ausgefüllt wurde. Nach diesen Manipulationen wurde das Kautschukende des Ansatzrohres mit einem Glasstab zugemacht und ins Probierglas mit Quecksilber getaucht. Die Kolben wurden im großen Thermostaten bei 26° C aufbewahrt. Um die Gasprobe aus den Kolben herauszunehmen, brachten wir das Ansatzrohr mit kleinen Glaskugeln in Verbindung. Die Glaskugeln wurden natürlich zuerst evakuiert oder mit Wasser gefüllt. Alle Gasanalysen wurden mittels Apparaten von Polowzoff unter Anwendung der Explosionsmethode ausgeführt. Die Zeichnungen I und II veranschaulichen die beschriebene Untersuchungsmethode.




Die Versuche haben uns ausnahmslos positive Resultate geliefert. In allen Kulturen wurden zuerst weiße Bakterienklumpen am Boden des Kolbens beobachtet; nach Verlauf von 5—6 Tagen fing die Lösung zu opaleszieren an und binnen 8—10 Tagen bildete sich immer außer den erwähnten Klumpen noch eine ununterbrochene schleimige Bakterienhaut auf der Oberfläche des Substrats. Diese Erscheinungen einer kräftigen Vegetation waren immer mit Erniedrigung des Gasdruckes im Kolben begleitet. Die Kolben, geöffnet unter Wasser, füllten sich stürmisch mit Flüssigkeit. Die Bakterienhaut in solchen gefüllten Kolben änderte ihr Aussehen: statt einer schleimigen Decke wurden zerrissene, durchsichtige Häutchen beobachtet, welche nach und nach am Boden des Kolbens zusammenfielen. Die mikroskopische Untersuchung der Flüssigkeit gab das befriedigende Bild der reichen Vegetation von Stäbchenbakterien, welche kaum von irgendwelchen anderen Species begleitet war. Es wurden nämlich immer sehr gleichartige, dünne Stäbchen von 1,5—2 $\mu$ Länge beobachtet. Das physiologische Verhalten dieser Vegetation hat uns auch überzeugt, daß in den Kulturen ein eigenartiger Organismus die Oberhand gewonnen hat und hier keine nennenswerten Mengen an-

1) Ber. d. D. bot. Gesellsch. 1903; Journ. f. d. experim. Landw. 1903 u. 1904.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

derer Mikroben sich entwickelten. In alten Kulturen, welche über 25—30 Tage gestanden hatten, haben wir gewöhnlich ein volles Vakuum beobachtet. Diese Tatsache ist nur durch die Voraussetzung zu erklären, daß in den Kolben außer Wasserstoffbakterien, welche Wasserstoff bis zu Wasser verbrannten und Kohlensäure zerlegten, keine anderen Mikroorganismen sich entwickeln konnten. Die Untersuchung jüngerer Kulturen führt aber zu derselben Folgerung. Wir konnten nämlich durch Gasanalysen mit Sicherheit konstatieren, daß bei einem unvollständigen Verbrauch der Gasmischung im Kolben doch das Knallgas als solches utilisiert wurde; in unverbrauchten Gasresten fanden wir Wasserstoff und Sauerstoff in demselben Verhältnis zueinander (2 : 1), welches in der Gasmischung vor den Versuchen beobachtet worden war. Eine Mischkultur könnte kaum dem Sauerstoff gegenüber indifferent sein. Es wurde auch niemals die Vergrößerung der vorhandenen Mengen Stickstoff oder Kohlensäure beobachtet. Die Kohlensäure wurde sogar immer zum größten Teile verbraucht gefunden, ungeachtet dessen, daß am Ende der Versuche in der Nährlösung kleine Quantitäten freier Säure konstatiert wurden. Der Ursprung dieser Säure ist uns unbekannt geblieben. Es ist selbstverständlich, daß in ähnlichen Nebenfragen nur absolut sichere Reinkulturen helfen könnten. Wir müssen aber gestehen, daß vorläufig, außer der Anwendung der oben beschriebenen Methode einer streng elektiven Züchtung, keine anderen Mittel zur Isolierung der Wasserstoffbakterien von uns gebraucht wurden. Dies ist die Aufgabe weiterer Untersuchungen.

### Versuch 5. Zweite Ueberimpfung der Züchtung aus Odessaer Schwarzerde.

Destillationskolben, 1500 ccm Kapazität, mit 150 ccm Nährlösung und 1350 ccm Gasmischung, enthaltend 90,4 Proz. des Knallgases. Nach 4—5 Tagen bei 26° C wurden Bakterienklumpen am Kolbenboden beobachtet, nach 6—7 Tagen wurde eine dünne schleimige Bakteriendecke an der Oberfläche der Nährlösung konstatiert; die Lösung selbst war aber dann stark opaleszierend. Am 13. Tage wurde der Kolben unter sterilisiertem Wasser geöffnet; es wurden dann 700 ccm Wasser zur Deckung des gebildeten Vakuums verbraucht. Dieselbe Manipulation wurde am 18. Tage wiederholt; es waren dann wieder 330 ccm Wasser in den Kolben eingetreten. Die unverbrauchte Gasmischung enthielt am 13. Kulturtage 90 Proz., am 18. Tage 88 Proz. des Knallgases. Für verschiedene Perioden der Kultur wurden folgende Mengen von Gasen im Kolben gefunden:

| Kulturperioden | Knallgas ccm | Kohlensäure ccm | Ueberflüssiger Sauerstoff ccm |
|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | 1222 | 100 | 28 |
| Nach 13 Tagen | 543 | 75 | 32 |
| „ 18 „ | 231 | 67 | 32 |
| Verbraucht | 991 | 33 | — |

### Versuch 17. Dritte Ueberimpfung.

Destillationskolben, 1003 ccm Kapazität, mit 100 ccm der Nährlösung und 903 ccm der Gasmischung, enthaltend 91,89 Proz. des Knallgases. Es wurden wieder zuerst Bakterienklumpen am Boden und dann



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schleimhaut an der Oberfläche der Nährlösung beobachtet. Am 18. Tage hatte der Kolben 359 ccm Wasser eingesaugt, der unverbrauchte Rest der Gasmischung hatte 91,11 Proz. des Knallgases enthalten. Im Kolben wurden dann folgende Mengen verschiedener Gase gefunden:

| Kulturperioden | Knallgas ccm | Kohlensäure ccm | Ueberflüssiger Sauerstoff und Stickstoff ccm |
|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | 829,8 | 40,8 | 32,4 |
| Nach 18 Tagen | 494,7 | 18,6 | 29,4 |
| Verbraucht | 335,1 | 22,2 | — |

## Versuch 19. Dritte Ueberimpfung.

Destillationskolben, 658 ccm Kapazität, mit 100 ccm Nährlösung und 558 ccm Gasmischung. Binnen 18 Tagen wurden 172 ccm des Gases verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| Kulturperioden | Wasserstoff ccm | Sauerstoff ccm | Kohlensäure ccm | Stickstoff ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | 346,9 | 161,2 (?) | 32,0 | 18,2 |
| Nach 18 Tagen | 236,3 | 118,3 | 18,0 | 18,8 |
| Verbraucht | 100,6 | 42,9 (?) | 14,0 | — |

## Versuch 20. Dritte Ueberimpfung.

Destillationskolben, 560 ccm Kapazität, mit 100 ccm der Nährlösung. Binnen 15 Tagen der Kultur bei 27° C wurden 297 ccm des Gases verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| Kulturperioden | Wasserstoff ccm | Sauerstoff ccm | Kohlensäure ccm | Stickstoff ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | 282,0 | 133,3 | 22,8 | 21,7 |
| Nach 15 Tagen | 95,9 | 47,9 | 8,2 | 16,3 |
| Verbraucht | 187,1 | 95,4 | 14,6 | — |

| No. der Versuche | Versuchsdauer in Tagen | Die Menge der verbrauchten Gasmischung in ccm | Die Menge des Gasrestes in ccm |
|---|---|---|---|
| 1. Erste Schwarzerdeimpfung | 30 | 300 | 20 |
| 9. Desgl. | 15 | 400 | 160 |
| Desgl. | 20 | 545 | 15 |
| 10. Erste Impfung aus polnischem Boden | 35 | 490 | 70 |
| 12. Dritte Ueberimpfung von Schwarzerdebakterien | 23 | 541 | 459 |
| 6. Zweite Ueberimpfung von Schwarzerdebakterien | 25 | 600 | 750 |
| Desgl. | 39 | 1300 | 50 |

Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Aus den oben geschilderten Resultaten kann man gewiß mit voller Bestimmtheit versichern, daß es uns wirklich gelungen ist, die Oxydation des Wasserstoffs durch autotrophe Stäbchenbakterien endgültig zu beweisen.

Juli 1906.

---

Während des Druckes dieser Mitteilung waren wir durch die liebenswürdige Hinweisung von Prof. Dr. Butkewitsch mit der Arbeit Dr. Immendorffs vom Jahre 1892: „Beiträge zur Lösung der Stickstofffrage" (Landw. Jahrb. Bd. XXI. p. 281) bekannt geworden. In dem Abschnitt III, unter dem Titel: „Die Vereinigung von Sauerstoff und Wasserstoff durch die Ackererde", fanden wir hier die Beschreibung von 4 Versuchen mit bakterienhaltiger Erde in Knallgasatmosphäre, welche die Möglichkeit der Oxydation des Wasserstoffes durch Bodenbakterien sehr wahrscheinlich machten. 25 g unchloroformierter Erde konnten z. B. bis 400 ccm Knallgas zum Verschwinden bringen, chloroformierte Erde blieb aber wirkungslos. „Wenn der Analogieschluß in unserem Falle zutrifft" — schrieb Dr. Immendorff — „so wurde bei dem von mir beobachteten Vorgange der freie Wasserstoff als ‚Respirationsmittel' benutzt und Wasser als Atmungsprodukt gebildet" (p. 325). Es ist also der Verdienst Immendorffs, die Oxydation des Wasserstoffs durch Bakterien entdeckt zu haben.

Wir wollen hier noch folgende Bemerkungen über die ausführliche Arbeit Kaserers: „Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen" (diese Zeitschrift. Bd. XVI), welche bald nach Absendung unseres Manuskriptes an die Redaktion des Centralblattes veröffentlicht wurde, hinzufügen.

Verf. betont wieder die großen Vorzüge der Züchtung der Bakterien in offenen, kleinen (5 ccm) Kölbchen nach seiner Vergleichsmethode. Es scheint aber, daß zur Zeit Kaserer auch einige Mängel seiner Methode bemerkt hatte. Wir finden z. B. folgende Aeußerung von ihm: „Für genauere Versuche genügen die halbseitig offenen Kölbchen nicht" (p. 685). Verf. beschreibt deswegen 3 neue Versuche in größeren (35 ccm), graduierten Kölbchen, welche geschlossen waren und deswegen natürlicherweise etwas bessere Resultate liefern konnten. Es war aber durch Kaserer kein großer Fortschritt gemacht worden; der Autor bemerkt sogar selbst, daß die Methode nur annähernd genau ist; die wichtigste Frage über das Verhältnis von $CO_2 : H_2 : O$ „läßt sich nur sehr schwierig, in geschlossenen Gärkölbchen überhaupt nicht feststellen" (p. 694, 695). Solche Zugeständnisse halten aber Dr. Kaserer nicht ab, sehr kategorische Schlußfolgerungen über den Verlauf des Gaswechsels in seinen Zwergkulturen zu machen und zahlreiche Hypothesen über neue physiologische Typen der Mikroorganismen aufzustellen. Wir können aber hier nicht auf eine nähere Betrachtung der Tatsachen und Vermutungen Kaserers eingehen, das wird etwas später in einem speziellen Artikel geschehen.

---



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule Graz. Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer.]

## II. Pseudomonas dermatogenes. III. Pseudomonas myxogenes. IV. Micrococcus dermatogenes.

Nebst einigen Bemerkungen über Pseudomonas aeruginosa und fluorescens.]

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Mit 1 Tafel und 3 Kurven.

Wie Lehmann und Neumann[1]) und andere Untersucher hervorheben, unterscheiden sich Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig. und Pseudomonas fluorescens (Flügge) Mig. gar nicht voneinander oder nur sehr wenig in Bezug auf die Farbstoffbildung, nachdem zahlreiche Stämme der ersten Art bekannt wurden, die nur das Bakteriofluorescein bilden. Migula[2]) führt in seiner Systematik beide Arten als getrennte Species unter obiger Bezeichnung auf.

Da fluoreszierende, die Gelatine verflüssigende Bakterienarten mitunter sehr schwierig zu bestimmen sind, und dies auch bei meinen aus Flaschenbier isolierten Bakterien der Fall war, entschloß ich mich, Vergleichsversuche mit Stämmen von Pseudomonas aeruginosa und fluorescens anzustellen. Sie sollen hier näher erörtert werden, da daraus nicht nur die Verschiedenheit meiner neuen Bakterienarten hervorgeht, sondern gleichzeitig zu ersehen ist, daß die obengenannten Bakterienarten nicht miteinander identifiziert werden dürfen, sofern die mir zur Verfügung stehenden Stämme als echte Vertreter dieser Arten anzusehen sind.

Ich verfügte über zwei Stämme von Pseudomonas aeruginosa, die verschiedener Herkunft waren. Einen isolierte ich selbst gelegentlich aus dem Staub unseres Laboratoriums, nachdem auf offen gehaltenen Gelatineplatten sich spontan mehrere Kolonieen dieser Bakterienart entwickelten. Den zweiten Stamm überließ mir Herr Dr. M. Kaiser, Assistent am hygienischen Institut unserer Universität, wofür dem genannten Herrn mein bester Dank ausgedrückt sei. Beide Kulturen erwiesen sich in ihren morphologischen und biologischen Eigentümlichkeiten als vollständig identisch. Diese lassen sich kurz folgendermaßen beschreiben:

Die Stäbchen von Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig. (= Bacterium aeruginosum Schröter = Bacillus pyocyaneus Gessard = Bacterium pyocyaneum Lehm. et Neum.) sind zierlich und schlank, im Mittel 0,5 $\mu$ breit und 2—4 $\mu$ lang, entsprechend den Teilungsverhältnissen und Züchtungsbedingungen. Bei der Zucht auf Agar bei 22° C sind sie sehr lebhaft beweglich. Das davon hergestellte Geißelfärbungspräparat zeigt an einem Ende der Bakterienzelle 1—3 Geißeln, die ungefähr das 2—3-fache der Zellenlänge

1) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1896. I. Teil. p. 267 u. 272.)

2) Migula, System der Bakterien. Jena 1900. p. 884 u. 886.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

messen und schön geschwungen sind. Sie besitzen eine große Neigung, miteinander zu verkleben, so daß dann der Schein erweckt wird, als hätte die Zelle nur eine polare Geißel von beträchtlicher Dicke, wie man Pseudomonas aeruginosa häufig abgebildet sieht. Da diese zarten Gebilde sehr leicht abgerissen werden, findet man natürlich auch zahlreiche Bakterien, die nur einen einzigen Geißelfaden aufweisen, der dann aber sehr zart und dünn ist. Das Temperaturoptimum liegt ungefähr bei 35° C, wo am raschesten und schönsten die Farbstoffe gebildet werden. Sie entstehen aber nicht gleichzeitig, sondern hintereinander. Zuerst, schon nach 24 Stunden, bemerkt man das Auftreten von grüner Fluoreszenz, zurückzuführen auf das gebildete Bakteriofluorescein Lehmann, das ja nach den Untersuchungen von Thumm[1]) bei allen fluoreszierenden Bakterienarten der gleiche Farbstoff sein soll. Wie derselbe Autor angibt, haben seine Stämme von Pseudomonas aeruginosa nur das Bacteriofluorescein gebildet und sonst keinen Farbstoff. Meine Stämme dieser Bakterienart bildeten auf Agar bei Brüttemperatur schon nach 2—3 Tagen noch einen blauen Farbstoff, das Pyocyanin, den schon Fordos[2]) im Jahre 1859 aus dem blaugrünen Eiter erhielt. In der Folge werden die Agarkulturen und der Nährboden immer dunkler und letzterer schließlich schwarzbraun. In Kulturen, die vor dem Austrocknen nicht geschützt sind, entsteht nach 14 Tagen bis 3 Wochen auf dem Kulturrasen ein sehr zarter, silberweiß schimmernder Belag, der aus feinen Blättchen besteht und der Auflagerung einen gewissen metallischen Schimmer verleiht. Behandelt man solche Kulturen mit Chloroform, so lösen sich diese Blättchen langsam mit blauer Farbe auf. Es scheint hier infolge Austrocknung der blaue Farbstoff in Gestalt dieser feinsten Gebilde auszukristallisieren. Die untersten Partieen des Agars sind meistens lebhaft hellbraun-gelb gefärbt. Diese Färbung scheint von einem dritten Farbstoff herzurühren, der in den Nährböden zu diffundieren vermag und wasserlöslich ist. Uebrigens beschreiben Kunz[3]), Babes[4]) und Gessard[5]) u. a. noch einen dritten Farbstoff, der von Pseudomonas aeruginosa gebildet werden soll. Der von mir soeben beschriebene scheint nur mit dem Pyoxanthin Gessards identisch zu sein. Es würde zu weit führen, hier die gesamte Literatur über die Farbstoffbildung der Pyocyaneus-Stämme anzuführen; ich möchte nur noch erwähnen, daß der zuletzt genannte Farbstoff sehr reichlich in stark verflüssigten Gelatinestichkulturen entsteht und den peptonisierten Massen eine rotgelbe Farbe verleiht. Bezüglich der Farbstoffbildung meiner Stämme sei noch bemerkt, daß in der Produktion der genannten drei Farbstoffe eine merkliche Veränderlichkeit besteht. Einmal herrscht die Produktion des einen, das andere Mal des anderen Farbstoffes vor, ohne daß dafür eine Ursache zu finden wäre. Nur das Auftreten des Bakteriofluorescein ist konstant. Allerdings muß ich aber bemerken, daß die geschilderten drei Farbstoffe von meinen Stämmen immer gebildet wurden, wenn auch in wechselnden Mengen.

Die auf der Gelatineplatte oberflächlich wachsenden

1) Thumm, Arbeiten aus dem bakteriol. Instit. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1895.
2) Compt. rend. des l'Acad. de sciences. Bd. LI. 1859.
3) Sitzungsberichte der Kais. Akad. der Wiss. in Wien. Bd. XCVII.
4) Compt. rend. de la société de biologie. 1889.
5) La Semaine médicale. 1890.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonieen von Pseudomonas aeruginosa sind kreisrund und langsam verflüssigend. Nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur messen sie ungefähr 2 mm im Durchmesser und besitzen einen eigentümlichen Aufbau. Fig. 1 der Tafel zeigt uns das Photogramm einer solchen Kolonie nach 4-tägigem Wachstum bei 22° C. Es fällt sofort der geschichtete und radiäre Aufbau in die Augen. Die Mitte ist gleichmäßig verdickt und erscheint braungelb im durchfallenden Licht bei mäßig zugezogener Blende. Dann folgt ein schmaler, dünner und konzentrischer Ring, der aus einer Reihe ziemlich gleicher, radiär gestellter Lappen besteht, deren periphere Enden von einem noch dünneren Saum gebildet werden. Endlich wird diese Bildung von einer zarten, flächenhaften, scharf begrenzten Auflagerung umgeben, die deutlich radiär gestreift ist. Gegen die in der Nähe erweichte Gelatine hebt sich die ganze Kolonie gut ab. Ihre Konturen sind scharf begrenzt und wenig gekerbt. Die Oberfläche erscheint geädert und wie mit feinen Krümeln bestreut. Die tiefliegenden Kolonieen sind braungelb, kugelig und bestehen aus kleinen und gröberen Krümeln und Bröckchen. Je tiefer ihre Lage in der Gelatine ist, um so langsamer ist ihre Entwickelung. Ausläufer in die umgebende Gelatine werden niemals gebildet. Auch in vollständig verflüssigten Platten besitzen die noch zusammenhängenden Kolonieen keine Ausläufer.

In der Gelatinestichkultur tritt ziemlich langsam Verflüssigung auf. Ein geringer Grad von Alkaleszenz beschleunigt sichtlich das Wachstum. Das Optimum wurde bei meinen Stämmen durch Zugabe von 2—3 Proz. Normal-NaOH erreicht. Aber auch bei bedeutend stärkerer Alkaleszenz ist das Wachstum noch als gut zu bezeichnen. Die verflüssigten Massen werden nach einiger Zeit braungelb gefärbt. An der Oberfläche derselben bildet sich ein derbes Deckhäutchen, das beim Schütteln nur mit Mühe in Flocken zerteilt werden kann. Es besitzt eine schön blaßgrüne Eigenfarbe. Die Fluoreszenserscheinungen treten nur in den ersten Tagen in den Vordergrund und werden später durch den braunroten Farbstoff zurückgedrängt.

Meine Stämme von Pseudomonas aeruginosa koagulieren sterilisierte Milch bei Brüttemperatur sehr rasch, schon nach 16 bis 18 Stunden. Nach 24 Stunden tritt die Farbstoftbildung in Erscheinung, indem die oberen Partien des Milchserums gelbgrün bis blaugrün gefärbt werden. Nur sehr langsam wird das gefällte Kasein wieder gelöst.

Auf das Weiße der Scheibe von gekochtem Hühnerei verimpft, wächst Pseudomonas aeruginosa bei Brüttemperatur sehr gut. Nach 24 Stunden ist ein mehr trocken aussehender blaugrüner Belag von geringer Dicke zu beobachten. Der gebildete Farbstoff durchdringt allmählich das Eiweiß. Nach 6 Tagen ist die ganze Eischeibe in eine schmierige, zum Teil schon zerflossene, braunschwarze Masse umgewandelt, die auffallend nach heißen, konzentrierten Peptonlösungen riecht und der nur wenig Ammoniak entströmt. Ein Fäulnisgestank macht sich niemals bemerkbar.

In Petruschkys Lackmusmolke ist das Wachstum sowohl bei Zimmer- als bei Brüttemperatur gut. Dabei wird Alkali gebildet, das durch Kochen zum Teil entfernt werden kann und Ammoniak ist, zum Teil aber an gebildete Säuren gebunden ist, die allem Anscheine nach von der gespaltenen Laktose stammen. Die Gesamt-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

menge des in 6 Tagen in 100 ccm Lackmusmolke durch Pseudomonas aeruginosa bei 22° C gebildeten Alkali entspricht 5,6 ccm $^{1}/_{10}$-Normalsalzsäure. In diesem Nährsubstrat produziert unsere Bakterienart in der angegebenen Zeit also 5,6 Proz. $^{1}/_{10}$-Normalalkali, wovon durch Kochen bis auf 1 Proz. alles verjagt werden kann.

Da es sich hier nicht um eine erschöpfende Beschreibung der morphologischen und biologischen Merkmale von Pseudomonas aeruginosa handeln kann, vielmehr nur einige wesentliche Eigenschaften herausgegriffen werden sollen, die eine Unterscheidung und Charakterisierung der betreffenden Bakterienart ermöglichen, begnüge ich mich mit den mitgeteilten Daten und füge daran die Beobachtungen an der auf den gleichen Nährböden unter identischen Bedingungen gezüchteten Pseudomonas fluorescens.

Der mir zur Verfügung stehende Stamm von Pseudomonas fluorescens (Flügge) Mig. (= Bacillus fluorescens liquefaciens Flügge = Bacterium fluorescens Lehm. et Neum.) zeigte im allgemeinen diejenigen morphologischen und biologischen Eigentümlichkeiten, die ihm von den verschiedenen Untersuchern zugesprochen werden. Er wurde mir vom Vorstand der staatlichen Pflanzenschutzstation in Wien, Herrn Dr. K. Kornauth überlassen, wofür ich hier meinen Dank ausspreche.

Die bei 22° C auf Nähragar gewachsenen Stäbchen sind in ungefärbtem Zustand lebend gemessen 0,6—0,7 $\mu$ breit und 3—4 $\mu$ lang. Die Bakterien junger Agarkulturen sind lebhaft beweglich. Sie besitzen an einem Zellpole ein Büschel von Geißelfäden, deren Zahl zwischen 3 und 5 schwankt. Die Geißeln sind rund 2mal so lang als die Zellen selbst. Sie sind sehr zart und schwierig darzustellen und verlaufen leicht wellig gebogen oder mehr gestreckt. Die bereits länger ausgewachsenen und in Teilung begriffenen Stäbchen besitzen an jedem Zellpole ein Geißelbüschel.

Nach der Gramschen Methode behandelt, gibt Pseudomonas fluorescens den Farbstoff schnell und vollständig ab, während ihn Pseudomonas aeruginosa länger behält und nicht vollständig abgibt.

Sowohl bei Brüttemperatur als auch bei Zimmertemperatur ist das Wachstum von Pseudomonas fluorescens sehr gut, am besten um 32° C.

Migula (l. c.) beschreibt die Bildung der Oberflächenkolonieen auf Nährgelatine und ihr Aussehen auf p. 887 des zitierten Werkes also: „Ist endlich ein Durchbruch an der Oberfläche erfolgt, so tritt Verflüssigung der Gelatine ein; auf dem Boden lagert sich eine gelbbraune, körnige Bakterienmasse dicht zusammen, während um dieselbe kleine körnchenförmige Bakterienaggregate mehr oder weniger zerstreut liegen. Die Kolonie hebt sich nicht mehr scharf von der Gelatine ab.“ Dem habe ich nur noch anzufügen, daß von den Kolonieen meines Stammes sehr zahlreiche äußerst feine Ausläufer in die Umgebung ausstrahlen, wie es in Fig. 2 der Tafel abgebildet ist. Es ist die ganze Kolonie von einem feinen Strahlenkranz umgeben. Besonders an den tiefliegenden, nicht in der verflüssigten Gelatine liegenden Kolonieen kommt diese Erscheinung zum Ausdruck (vergl. Fig. 2). Wie früher angeführt, fehlt diese Eigentümlichkeit bei Pseudomonas aeruginosa vollständig. Ich glaube nicht, daß die Bildung dieser

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ausläufer auf eine raschere und energischere Verflüssigung zurückgeführt werden kann, denn sie treten hier auch auf, wenn man steifere Gelatine verwendet, die nicht schneller peptonisiert wird, als die gewöhnliche von Pseudomonas aeruginosa. Außerdem ist der Strahlenkranz auch bei den tiefliegenden, in der starren Gelatine befindlichen Kolonieen da, und fehlt bei der letztgenannten Bakterienart dagegen stets. Ich halte die Annahme für gerechtfertigt, daß hier eine tiefere Ursache für das verschiedene Wachstum vorliegt, als einfach eine Abnahme der Peptonisierungsfähigkeit. Ueberhaupt ist die Kolonie von Pseudomonas fluorescens ganz anders gefügt, als die von Pseudomonas aeruginosa.

In der Gelatinestichkultur verflüssigt Pseudomonas fluorescens sehr energisch, sofern der Nährboden neutral oder alkalisch ist. Das Alkaleszenzoptimum liegt um 3 Proz, Normal-NaOH. Die verflüssigten Massen sind gelbgrün fluoreszierend und fast vollständig klar. Am Boden sammelt sich ein gelbweißer Niederschlag, während die Oberfläche eine hellgrüne, mäßig dicke, mehr schleimig aussehende Kahmhaut bedeckt. Von diesem trockenen Aussehen und metallischen Schimmer, wie er am Deckhäutchen von Pseudomonas aeruginosa immer zu sehen ist, kann man niemals etwas beobachten. Auch die starke Gelbfärbung der verflüssigten Massen, die für die letztgenannte Bakterienart typisch ist, wird hier vermißt.

Die Agarstrichkultur fluoresziert schon nach 16—18 Stunden gelbgrün; später intensiv dunkelgrün. Die Auflagerung überzieht gleichmäßig als feuchter, mehr schleimiger Belag, der nicht fadenziehend ist, die Oberfläche. Auch hier kommt es niemals zur Bildung der bei Pseudomonas aeruginosa erwähnten Schüppchen und Blättchen. Alte Agarkulturen sind tief moosgrün, denn die Agarmasse ist von diesem Farbstoff weit durchdrungen. Die entlegenen Partieen sind gelblich, entsprechend der ursprünglichen Agarfarbe.

Hervorheben möchte ich noch das Wachstum auf der gekochten Hühnereischeibe. Hier bildet sich bei Brüttemperatur nach 24 Stunden ein nahezu ungefärbter, feuchter Belag, während die darunter liegenden Eiweißpartieen von einem hell gelbgrünen Farbstoff durchsetzt sind. Nach 6 Tagen beobachtet man eine sehr geringe Verflüssigung der Eiweißmassen und eine starke Durchfeuchtung des Eigelb. Dabei ist das Eiweiß sehr durchscheinend, fast durchsichtig geworden und hat eine prachtvolle, gelbgrüne Farbe angenommen. Beim Eröffnen der Kulturschale entströmt in großen Mengen Ammoniak, während der Peptongeruch nahezu vollständig mangelt. Die Erscheinungen sind hier ganz anders als bei Pseudomonas aeruginosa. Es wird hier anscheinend nur wenig peptonisiert und die geringen Mengen des gelösten Eiweißes rasch bis zum Ammoniak herab gespalten, während Pseudomonas aeruginosa vielmehr koaguliertes Eiweiß löst und komplett erweicht, als weiter gespalten wird. Auch diese differenten Erscheinungen sprechen wohl sehr für die Aufrechthaltung der Trennung dieser beiden Bakterien in zwei verschiedene Species.

Die Kultur auf Petruschkys Lackmusmolke gibt nur wenige Verschiedenheiten beider Bakterienarten. Auch Pseudomonas fluorescens bildet darauf gezüchtet Alkali, das wieder teilweise durch Kochen entfernt werden kann, teilweise an Säuren gebunden zu sein scheint. In Prozenten $^1/_{10}$-Normallösung ausgedrückt, wird in 6 Tagen eine Ge-

Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

samtmenge von 7 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali gebildet, wovon durch längeres Kochen bis auf 2,5 Proz. alles vertrieben werden kann. Es wird hier annähernd die gleiche Menge freien Ammoniaks gebildet, wie von Pseudomonas aeruginosa, wenn auch mehr Gesamtalkali und fixes Alkali produziert wird. Daraus allein auf eine Verschiedenheit der Art zu schließen, scheint mir nicht gerechtfertigt. In Verbindung mit allen anderen Verschiedenheiten spricht diese Differenz aber doch für eine Artverschiedenheit beider Spezies.

Es kann mir als Mangel dieser Untersuchungen vorgehalten werden, daß ich die Tierpathogenität und spezifische Immunität bei diesen zwei Bakterienarten außer acht ließ. Die Tierpathogenität ist für die Unterscheidung der Arten nur wenig zu verwerten, da sie sehr großen Schwankungen bei ein und derselben Species unterliegt. Die spezifischen Immunitätsreaktionen haben allerdings für die Art- oder Gruppendiagnose große Bedeutung, und ich gestehe, daß ich Agglutinationsversuche sehr gern gemacht hätte. Dazu gehört aber das nötige Tiermaterial. welches unser Institut nicht besitzt. Die technische Mykologie macht eben sehr wenig vom Tierexperiment Gebrauch, obwohl das Studium der Einwirkung technisch wichtiger Bakterien auf den Tierkörper gewiß manche interessante Tatsache zutage fördern würde, einerlei ob die betreffende Species als Schädling oder als Förderer im technischen Gärungsbetrieb auftritt. Auch für die Aufstellung von Gruppen und Arten der technisch wichtigen Bakterien hätten derartige Untersuchungen großen Wert. Aus den oben klargelegten Gründen ist es mir zur Zeit leider nicht möglich, derartige Untersuchungen in Angriff zu nehmen.

Wie schon einleitend bemerkt wurde, neigen einige Autoren zu der Ansicht, daß zwischeu Pseudomonas aeruginosa und fluorescens kein Unterschied besteht und daß nur eine nebensächliche Differenz in der Farbstoffproduktion vorliegt, die aber nicht zur Trennung in zwei Species genügend ist. Obgleich meine aus Bier reingezüchteten fluoreszierenden Bakterien sich von ihnen leicht unterscheiden lassen und gewiß nicht als Varietäten derselben aufgefaßt werden können, teilte ich auszugsweise die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen mit, um vielleicht durch die Beibringung neuer Tatsachen diese Frage klären zu helfen. Wie schon oben berichtet, glaube ich zu der Annahme berechtigt zu sein, daß Pseudomonas aeruginosa und Pseudomonas fluorescens zwar untereinander in nahen Beziehungen stehen, aber doch zwei gesonderte Bakterienspecies sind, deren Zusammenziehung in eine Art nicht gerechtfertigt ist.

---

Die beiden neuen, aus Flaschenbier isolierten fluoreszierenden und Gelatine peptonisierenden Mikroben sind weder mit Pseudomonas aeruginosa noch mit Pseudomonas fluorescens identisch. Beide neuen Arten unterscheiden sich von den genannten schon dadurch, daß sie sich bei Brüttemperatur nicht mehr vermehren, sondern nur gewisse Formveränderungen zeigen, auf die ich noch zurückkomme. Beide gehören in die Gattung „Pseudomonas" des Systems von Migula.

## II. Pseudomonas dermatogenes.

Diese Bakterienart wurde aus einem Flaschenbiere mit einem Alkoholgehalt von 3,75 Gewichtsproz. reingezüchtet. Diese Bierprobe enthielt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Kubikcentimeter ca. 100 Bakterienkolonieen, von denen 23 auf diese Species entfallen. Das Flaschenbier wurde nicht in einer hiesigen Brauerei gefüllt, sondern stammt aus einer konzessionierten Bierfüllerei. Die Flasche war mit einem guten Kork tadellos verschlossen.

Da die in Rede stehende Bakterienart noch nicht beschrieben ist und auf Agar sehr dicke, vielfach erhabene und derbe Häute bildet, außerdem lophotrich begeißelt ist, bezeichne ich sie entsprechend der Systematik von Migula mit dem Namen Pseudomonas dermatogenes.

### Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Pseudomonas dermatogenes bildet auf der Gelatineplatte (10 Proz. Gelatine, 2 Proz. Peptonum siccum Witte, 1 Proz. Dextrose und 0,5 Proz. ClNa) sehr charakteristische Auflagerungen. Die oberflächlichen Kolonieen sind nach 24 Stunden bei 22° C sehr klein und messen nur $^1/_{10}$ mm im Maximum. Diese Auflagerung ist scharf begrenzt und besitzt eine nur wenig gewellte und gebuchtete Kontur. Sie erscheint nur schwach bräunlichgelb gefärbt. Nach 48 Stunden sind die Kolonieen breiter geworden und erreichen nach 72 Stunden einen Durchmesser von 0,8 mm im Mittel. In diesem Alter und auch später bestehen sie aus übereinanderliegenden, wie Kristalle und Blättchen aussehende Klümpchen und Körnchen, die mehr oder weniger weit am Rande vorspringen. Die Mitte der Auflagerung ist bedeutend verdickt und erscheint im durchfallenden Licht dunkelbraun. In Fig. 3 der Tafel ist das Photogramm von 72-stündigen Kolonieen wiedergegeben, an denen alle Details sehr schön hervortreten. In der Umgebung der Kolonieen wird die Gelatine erweicht, wie auch aus dem lichten Rand um dieselben in der Figur entnommen werden kann. Nach 6–8 Tagen ist die Verflüssigung komplett, ohne daß dabei die Kolonieen zerfließen. Sie schwimmen vielmehr als gelbweiße Bröckelchen in der peptonisierten Gelatine und haben bei stärkerer Vergrößerung in diesem Zustand das Aussehen eines Morgensterns. Gleich hier möchte ich bemerken, daß neben den eben beschriebenen, typisch zu bezeichnenden Auflagerungen noch eine zweite Kolonieform zu bemerken ist, die wesentlich anders aussieht; zuerst glaubte ich, eine Verunreinigung in die Kulturen bekommen zu haben. Ich goß daher neuerdings Platten und impfte sosowohl Kolonieen vom ersten Typus als auch solche vom anderen ab. Die erhaltenen Kulturen glichen sich vollständig, ebenso die sowohl von den abgeimpften Kolonieen als auch von den angegangenen Kulturen hergestellten Ausstrichpräparate. Die zweite Kolonieform, die in Fig. 5 neben der bereits beschriebenen abgebildet ist, besitzt eine annähernde Kreisform, sie ist nicht gebuchtet und scharf begrenzt. Sie ist bedeutend dicker und dunkelgelbbraun gefärbt. Ihre Oberflächenstruktur ist feinkörnig. Wenn ich nun von den angegangenen Agarkulturen abermals Platten goß, erhielt ich immer beide Bildungen nebeneinander, und zwar die erst beschriebene Form stets in der Mehrzahl. Es ist hier nicht der Ort, über die näheren Bedingungen des Zustandekommens von zwei Kolonieformen unter gänzlich gleichen Bedingungen zu gleicher Zeit eingehender zu handeln, ebensowenig auf den Zusammenhang zwischen bestimmten Stäbchenformen und diesen Auflagerungen hinzuweisen. Dies behalte ich mir für eine gesonderte Mitteilung vor. Es sei nur nebenbei hier erwähnt, um diese Bakterienart genügend genau zu beschreiben.

Die in der Tiefe angegangenen Kolonieen sind kugelig und

Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

besitzen eine körnige Struktur, ohne irgendwelche Ausläufer in die umgebende Gelatine zu entsenden. Sie zeigen im durchfallenden Licht eine braungelbe Eigenfarbe.

Fertigt man von einer jungen Gelatineoberflächenkolonie einen hängenden Tropfen an, so beobachtet man darin sehr lebhaft bewegliche Stäbchen, die im Gesichtsfeld mit unglaublicher Schnelligkeit hin- und herschießen. Es besteht keine Neigung zur Kettenbildung, denn wir finden höchstens zwei Bakterien miteinander vereint.

Das mit $^1/_3$ Karbolfuchsin (1 Teil Karbolfuchsin + 2 Teile Wasser) durch 5 Sekunden in der Kälte gefärbte Ausstrichpräparat einer 48-stündigen Gelatinekolonie enthält bipolar gefärbte, eiförmige, an den Enden etwas verjüngte Stäbchen, deren Länge 1,2 bis 1,3 $\mu$, deren Breite 0,7 $\mu$ im Mittel mißt. Jedes Bakterium enthält in der Zellmitte eine ungefärbte Lücke, die mehr oder minder groß und in jugendlichen Zellen verschwindend klein ist (vergl. Photogramm Fig. 6 der Tafel). Wie die nähere Untersuchung dieser hellen Stellen ergab, handelt es sich hier nicht um Bildungen endogener Sporen, da sowohl die Sporenfärbung negativ ausfiel als auch der Keimungsversuch. Die ungefärbten Stellen erweitern sich im Verlaufe der Entwickelung ungefähr so weit, daß sie die Hälfte der Bacillenbreite annehmen. Dann findet auch schon die Teilung in 2 Stäbchen statt, die durch die Mitte dieser Gebilde einschneidet. In sehr alten Gelatinekulturen (14 Tage) gewahrt man allerdings in den nach irgend einer Sporenfärbung behandelten Stäbchen feinste Körnchen, die den Farbstoff, beispielsweise Karbolfuchsin, sehr lange zurückhalten und schwer abgeben, doch konnte eine Verdichtung solcher schwer entfärbbarer Körnchen zu fertigen Dauerformen oder Sporen nicht beobachtet werden. Inwieweit es sich vielleicht um eine reduzierte Sporenbildung oder nur um die Bildung resistenterer Bestandteile in der Zelle handelt, vermag ich noch nicht zu entscheiden und muß deshalb diese Fragen in suspenso lassen. In einer demnächst erscheinenden größeren Abhandlung über Entwickelungszyklen von Bakterien werden diese körnigen, schwer entfärbbaren Gebilde ohnehin eine eingehende Erörterung finden.

Weder in der neutralen Gelatineplatte noch in der Gelatinestichkultur bemerkt man irgendwelche Fluoreszenzerscheinungen. Gleichwohl wird das Bakteriofluorescein gebildet, denn nach Alkalisierung der verflüssigten Massen durch Zusatz von Natriumkarbonat und Natron- oder Kalilauge tritt prächtige gelbgrüne Fluoreszenz ein; es wird also der Farbstoff gebildet, aber durch gleichzeitige Produktion von Säure an der Entfaltung seiner Farbenerscheinungen gehindert.

Die Gelatinestichkultur unseres Bakteriums läßt Wachstum desselben längs des ganzen Impfstiches erkennen. Nach einigen Tagen zeigt sich ein kleiner, oben weiter und nur wenig in die Tiefe reichender Verflüssigungstrichter, der von einer ziemlich derben, weißgrauen Kahmhaut bedeckt ist. Am Grunde sammelt sich die Bakterienmasse in Form eines gelbweißen, feinkörnigen und ziemlich zusammenhängenden Niederschlages an, während die verflüssigte Masse selbst fast klar ist. Wegen der äußerst langsam verlaufenden Peptonisierung füllt den obersten Teil des Trichters eine Luftblase, so daß die Kultur ein Aussehen besitzt, wie wir es an Cholerakulturen zu beobachten gewohnt sind. Die Ränder des Verflüssigungstrichters sind gegen die versenkten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erweichten Massen scharf abgesetzt. Das oben erwähnte Deckhäutchen zeigt stets eine radiäre Reifung.

Auf schief erstarrten, neutralen Nähragar überimpft, gedeiht unsere Bakterienart bei 22—25° C sehr gut. Nach 24 Stunden ist ein zarter, feuchter, rötlich irisierender Belag längs des Impfstriches entstanden. Er ist scharf gegen die Agaroberfläche abgesetzt und besteht in seinen Randpartieen aus feinsten Körnchen. Das Kondenswasser ist mäßig getrübt und von einer sehr zarten Kahmhaut bedeckt. Nach weiteren 24 Stunden hat sich die Auflagerung bedeutend verdickt, besonders in den mittleren Teilen. Auch treten nach dieser Zeit die ersten Fluoreszenzerscheinungen auf. Nach 5 Tagen bekommt die Auflagerung ein sehr typisches Exterieur. Sie ist dann in der Mitte sehr dick, ca. 1,5—2 mm. Dieser dicke Streifen erscheint sehr feucht und glänzend. Umgeben ist er von einem dünneren Saum, der quer verlaufende, niedere Falten aufweist. Die ganze Auflagerung ist licht zitronengelb gefärbt. Der ganze Nährboden fluoresziert prachtvoll in gelbgrüner Farbe. Der Belag selbst läßt sich leicht abimpfen als breiige, nicht fadenziehende Masse. Beim Eröffnen des Röhrchens gewahrt man einen Geruch nach Ammoniak nebst einem nicht näher definierbaren faden Nebengeruch.

Untersucht man die Auflagerung einer jungen Agarkultur im hängenden Tropfen, so beobachtet man kurze, gut bewegliche, eiförmige Stäbchen, die oft zu zweit vereint sind, aber keine Fäden und Ketten bilden.

Das von einer solchen Kultur nach der vereinfachten Zettnowschen Methode hergestellte Geißelpräparat läßt an einem Pole der Zellen ein Büschel von 3—5 feinen, wellig gebogenen Geißelfäden erkennen, die 3—5 mal so lang als die Zelle selbst sind (vergl. Fig. 8 der Tafel). Die Geißeln reißen sehr leicht ab und liegen dann frei im Präparat. Viele Bakterien besitzen anscheinend nur eine einzige dicke Geißel, die bei genauerem Zusehen schon an der am Ende auftretenden Auffaserung als aus mehreren bestehend erkannt werden kann.

In dem mit $^1/_3$ Karbolfuchsin tingierten Ausstrichpräparat von einer 24-stündigen, bei 22° C gehaltenen Agarkultur gewahrt man homogen rot gefärbte, an den Enden leicht abgerundete Stäbchen, deren Länge im Mittel 1,8 $\mu$, deren Breite ungefähr ein Drittel davon mißt (vergl. Fig. 7 der Tafel).

Ueberträgt man nun den Belag einer 24-stündigen Agarkultur auf die Fläche eines frischen Agarröhrchens und setzt es einer Temperatur von 35° C durch weitere 24 Stunden aus, erhält man eine eigenartige körnige Struktur des Zellinnern, worauf hier nur nebenbei hingewiesen sei. Die Zellen haben eine mehr kugelige Gestalt angenommen und ihr Inneres besteht aus feinsten Körnchen, die nach Tinktion mit Löfflerschem Methylenblau distinkt gefärbt erscheinen. Zwischen den Körnchen beobachtet man kleinere und kleinste helle Lücken. Die Bakterien erscheinen auch nicht als scharf begrenzte Gebilde und haben eine mehr verschwommene Kontur. Bringt man diese Kultur wieder in Zimmertemperatur, so beobachtet man nach 24 Stunden wieder die normalen Verhältnisse. In der hohen Temperatur findet augenscheinlich keine nennenswerte Vermehrung der Bakterien statt.

Pseudomonas dermatogenes wächst zwischen 20 und 25° C am besten und vermag sich bei Körpertemperatur überhaupt nicht zu

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain

vermehren, stirbt aber selbst bei wochenlangem Aufenthalt in 37° C nicht ab.

Die mit unserer Bakterienart angelegte Agarstichkultur zeigt beim Temperaturoptimum gezüchtet längs des ganzen Impfstiches Wachstum. In Traubenzuckeragar findet dabei keine Gasbildung statt. In den ersten 24 Stunden bildet sich eine feuchte Auflagerung von gelbweißer Eigenfarbe um den Impfstich. Später verbreitert sich dieselbe über die ganze Oberfläche und wirft dann Falten auf. Nach 6—10 Tagen erreicht sie eine Dicke von 1,5—2 mm und ist intensiv zitronengelb gefärbt. Die Agarmasse fluoresziert in gelbgrüner Farbe.

Züchtet man Pseudomonas dermatogenes auf schief erstarrtem Agar anaërob in der Buchnerschen Röhre, findet ebenfalls Wachstum statt, nur ist es bedeutend verlangsamt und die Farbstoffbildung und Fluoreszenz fehlt. Es bildet sich nach einigen Tagen eine milchweiße Auflagerung vom geschilderten Typus.

Pseudomonas dermatogenes gehört demnach zu den fakultativ anaërob wachsenden Bakterien.

Auf das Weiße der gekochten Hühnereischeibe übertragen, gedeiht unsere Bakterienart bei 22° C ausgezeichnet, während bei 35° C jedes Wachstum unterbleibt. Nach 24 Stunden bildet sich ein braungelber Belag auf dem schwach grüngelb verfärbten Eiweiß. Dabei macht sich ein unangenehmer Geruch nach Valeriansäure bemerkbar. Nach 6 Tagen hat sich die Auflagerung verbreitert und ist chamoixfarbig. Das Weiße zeigt einen geringen Stich ins Gelbgrüne. Die Eiweißmassen sind etwas heller und stark durchscheinend geworden, ohne daß irgend eine Verflüssigung zu beobachten wäre. Das Eigelb blieb makroskopisch intakt. Die Kultur riecht nach Ammoniak und Baldriansäure. Die gleichzeitig von Pseudomonas fluorescens und aeruginosa angelegten Kulturen weisen nach dieser Zeit ganz andere Veränderungen des Eiweißes auf; es tritt eine sehr starke Farbstoffbildung in den Vordergrund, außerdem wird das Eiweiß mehr oder weniger peptonisiert, was bei unserer Bakterienart auch nach langer Zeit nicht zu beobachten ist.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe bildet Pseudomonas dermatogenes bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden einen chamoixfarbigen, mattglänzenden Ueberzug von ziemlich beträchtlicher Dicke. Wenn die Kartoffel etwas vertrocknet (ungefähr nach 6 Tagen), wird die Auflagerung lichter und glänzt von der Seite gesehen, fast perlmutterartig. Auch nach langem Wachstum auf der Kartoffel ist keine Sporenbildung bei unseren Bakterien zu bemerken.

Bei der Zucht auf allen gebräuchlichen Nährböden fehlt bei Pseudomonas dermatogenes jede Sporenbildung, selbst wenn man wochen- und monatealte Kulturen daraufhin untersucht. Es kommt nur zur Bildung der bereits kurz erwähnten schwer entfärbbaren Körner verschiedener Größe.

(Fortsetzung folgt.)

Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

*Nachdruck verboten.*

# Aromabildende Bakterien in Milch.

Von **J. van der Leck,** Rotterdam.

## Einleitung.

Bis jetzt war man nicht gewöhnt, bei einer Beschreibung irgend einer Milchbakterie eine Uebersicht der Milchflora im allgemeinen zu geben, vom Augenblicke an, wo die Milch das Kuheuter verläßt, bis man die Flüssigkeit keine Milch mehr nennen kann (Zersetzung). Ich bin jedoch der Meinung zugetan, daß eine systematische Einteilung der Bakterien, die ganze Zersetzungsphase hindurch, dazu beitragen wird, eine bessere Einsicht zu geben von der Wirkung, welche irgend eine spezielle Bakterienart in der Milch ausübt.

Ich werde versuchen, eine solche Einteilung zu geben, ehe ich einen besonderen Fall in Behandlung nehme.

Alle Bakterien, welche zur Entwickelung kommen können, bevor die Milch anfängt, sauer zu werden, sind als Vorflora zusammenzufassen, indem die Entwickelung der Hauptflora durch die Quantität Milchsäure bestimmt wird, sei es daß diese durch Bakterien in der Milch selbst produziert wird, oder indem sie absichtlich hinzugefügt wird. Die Entwickelung der entsprechenden Arten, sowohl was die Vorflora als die Hauptflora anbelangt, wird weiter durch Temperaturdifferenzen geregelt.

Es ist sehr zu empfehlen, bei einem so allgemein verbreiteten Material wie Milch einen Unterschied zwischen spezifischen und accidentellen Milchbakterien zu machen. Der Unterschied zwischen diesen Gruppen liegt darin, daß die spezifischen Milchbakterien infolge ihrer Allgemeinheit nie in Milchproben von nicht zu kleiner Quantität fehlen werden und daraus immer durch geeignete Kulturmethoden isoliert werden können. Die accidentellen Bakterienarten können im Gegenteil, so wie das Wort selbst schon ausdrückt, sogar in bedeutenden Mengen von Milch fehlen. Da eine gewisse Quantität Milchsäure sehr exklusiv wirkt, werden wir die accidentellen Milchbakterien hauptsächlich in der Vorflora antreffen.

Die Vorflora enthält die folgenden spezifischen Milchbakterien:

1) diejenigen, welche sich mit Vorteil bei niedriger Temperatur entwickeln,
   a) die Milchmikrokokken vom Kuheuter,
   b) die Fluoreszenten;
2) diejenigen Arten, welche einer höheren Temperatur bedürfen,
   c) die Heubacillengruppe,
   d) die Buttersäurebakterien.

Dagegen sind zu der accidentellen Flora so viele Arten zu bringen, daß wir uns auf die Aufzählung der vornehmsten beschränken werden:

a) Die Bakterien der Milchfehler (worunter ich die Bakterien verstehe, welche unangenehme Veränderungen in der Milch verursachen, sowie die von der bitteren, blauen, roten, gelben, schleimigen Milch, von der fischigen Milch [zweifelhaft, ob diese Umsetzung durch Bakterien kommt] und Rostflecke in Milch).

b) Pathogene Bakterien, z. B.:
   Tuberkelbacillen,
   Typhusbacillen,
   Cholerabacillen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

c) Pigmentbakterien, wozu schon teilweise die Bakterien von a) gerechnet werden müssen.

d) Ureum spaltende Bakterien (diese Gruppe ist insbesondere wichtig, da man hieraus sogleich auf die mehr oder weniger reinliche Behandlung der Milch schließen kann).

Da die Bakterien der Vorflora bei meinen Untersuchungen von weniger oder keinem Interesse sind, werden sie hier nicht weiter besprochen werden. An den Stellen jedoch, wo sie durch eine bestimmte Wirkung die Kulturmethoden bedingen, werden sie ausführlich genannt werden.

Wie schon gesagt, ist es bei der Hauptflora nicht nötig, eine besondere Einteilung in accidentelle und spezifische Bakterienarten zu machen, da letztgenannte Gruppe hier allein zur Entwickelung kommt. Die Hauptflora läßt sich jedoch in zwei Gruppen einteilen, die durch die Säurekonzentration bestimmt werden.

Den Unterschied zwischen den Arten, welche die Vorflora bilden, und denjenigen, welche für die erste Phase der Hauptflora bezeichnend sind, muß man in der ungleichen Empfindlichkeit gegenüber der durch die Milchsäurebakterien gebildeten Milchsäure suchen. Indem die ersten schon zu Grunde gehen bei einem Säuregehalt, welcher noch keinen halben Kubikzentimeter Normalsäure auf 100 ccm Milch beträgt, werden die letzten erst durch einen Säuregehalt von mehr als 1 ccm Normalsäure zu 100 stark benachteiligt. Nimmt der Säuregehalt noch mehr zu, so sind nur die spezifischen Arten der zweiten Phase der Hauptflora möglich. Die Hauptflora wird wie folgt eingeteilt:

Erste Phase:

a) Aërobacter coli, wozu der Bacillus coli commune der Literatur gerechnet werden muß.

b) Aërobacter aërogenes, wozu Bacillus lactis aërogenes der Literatur gehört,

c) Die Gruppe der aromabildenden Bakterien, welche im 2. Teil ausführlich beschrieben werden.

Zweite Phase:

a) Milchsäurebakterien, welche näher eingeteilt werden in Laktokokken und Laktobacillen. Es liegt nur an der Temperatur, welche Art die Ueberhand gewinnen wird.

b) Laktosehefen,

c) Oidium lactis.

Damit ist die Einteilung fertig, welche, wie man sieht, sehr kurz ist. Man würde zu der Besprechung des Bacillus aromaticus und der Gruppe der aromabildenden Bakterien übergehen können, wenn man nicht bei der Untersuchung dieser Gruppe Methoden benutzt und Schlüsse gezogen hätte, welche die Beschreibung verwirren und weniger übersichtlich machen werden, würden sie im Stücke selbst behandelt. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, sind diese Untersuchungen und Betrachtungen zu einem besonderen Teile zusammengefaßt, welcher mit der Bakterienbeschreibung selbst nichts zu tun hat. Durch diese Einteilung hoffe ich das Lesen meiner Arbeit angenehmer gemacht zu haben.

Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## Erster Abschnitt.

## Besondere Untersuchungsmethoden.

### Reaktionen auf Enzyme.

### § 1. Die Bestimmung von Chymosin.

Schon vor langer Zeit wußte man, daß das Labenzym, das man aus dem Kalbsmagen bereiten kann, auch in Pflanzen und Bakterien vorkommt. Die Untersucher zweifelten oft an der Identität dieser labähnlichen Enzyme, sie haben jedoch nie daran gezweifelt, daß die chemische Wirkung bei dieser Gerinnung immer dieselbe war. Das Vermögen, Chymosin zu produzieren, haben nicht alle Pflanzen und Bakterien gemein und man konnte so einen Unterschied zwischen bestimmten Arten machen. Bis jetzt war die einzige Methode, die zu untersuchenden Pflanzenextrakte und Bakterienkulturen in Milch zu bringen, diese auf 40° C zu erhitzen und zu beobachten, in wieviel Zeit die Milch gerinnt. Gewöhnlich sind die Versuche in Gläsern mit Milch genügend, es kann jedoch der Fall eintreten, daß diese Wirkungsweise weitläufig, ja sogar unmöglich ist. Sobald nämlich die Zahl der Proben zu groß wird, wird man einem festen Untersuchungsboden den Vorzug geben. Man braucht für 50 Proben 50 Gläser mit Milch, für dieselbe Zahl genügen 3 oder 4 Platten, im letzteren Falle ist die Uebersicht natürlich auch viel bequemer. Die letzte Methode läßt sich auch empfehlen, wenn wir ganz kleine Quantitäten Lab anzeigen müssen. Die Gerinnungszeit beträgt dann Stunden und wird auf Platten ansehnlich verkürzt. Ueberdies sind bei diesen zeitraubenden Proben störende Einflüsse, sowie Bakterienwachstum, wodurch Alkali, Säure oder Lab sich bilden könn, ohne Zweifel zu erwarten. In gewissen Fällen wird man diesem durch Blanco-Proben abhelfen können, wo diese jedoch nicht genügen, wird man nur mit Plattenproben richtige Resultate bekommen.

In Delft war im mikrobiologischen Laboratorium schon lange eine Methode eingeführt, die Gerinnung auf festem Boden zu beurteilen, welche Methode von mir in der gegenwärtigen Form gebracht wurde. Die Gerinnungsprobe wird wie folgt vorgenommen:

Ein kleiner Kolben mit Wasser, worin 3 Proz. Agaragar aufgelöst sind, wird bis zum Punkte des Festwerdens abgekühlt und eine gleiche Quantität Milch, welche auf 50° C erhitzt ist, beigemengt; man schüttelt gut durch und gießt zum Festwerden in einer Petri-Schale aus. Nach demselben hat man eine Milchagarplatte bekommen, welche nach dem Trocknen schon für Gerinnungsproben zu benutzen ist. Diese Milch ist jedoch mit derselben Menge Wasser verdünnt und dadurch wird die Gerinnung benachteiligt. Zahlreiche Untersuchungen haben angezeigt, daß die Schärfe der Gerinnungsreaktion durch Verdünnung der Milch bedeutend abnimmt und bei einer gewissen Verdünnung keine Gerinnung mehr stattfindet. Um diese Beschwerde zu umgehen, werden die Platten bei niedriger Temperatur eingedämpft, bis die Milch wieder die gewöhnliche Konzentration bekommen hat. Jetzt hat man eine Platte von großer Festigkeit bekommen, welche alle Eigenschaften von frischer Milch behalten hat.

Eine Hauptsache beim Anfertigen dieser Platten ist, daß die Mischung von Agar und Milch keinesfalls erwärmt werden darf. Ungeachtet der Abschwächung der Gerinnungsreaktion werden durch die Erhitzung bedeutende chemische Umsetzungen eingeleitet. Agaragar enthält große Mengen Kalksalz und dieses bildet mit dem Kasein der Milch Kaseïnate,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welche als unlöslicher Niederschlag ausfallen und den Milchagar für Gerinnungsproben ungeeignet machen.

Bringt man auf eine Milchagarplatte einen Tropfen Lab, so bildet sich bald rings um diese Stelle ein weißes Feld, das sich fortwährend ausbreitet. Aus dieser Probe läßt sich sofort schließen, daß das Labenzym sehr leicht diffundiert und wir könnten auf diese Weise mit ziemlicher Genauigkeit die Diffusionsschnelligkeit des Labenzyms berechnen. Hierbei zeigen sich jedoch Schwierigkeiten. Die Gerinnungszeit der Milch nämlich ist gleichgeltend mit der Quantität Lab. Eine ganz kleine Menge wird noch nach mehreren Stunden Gerinnung, hier Weißfärbung des Feldes, verursachen und bei Vermehrung der Quantität Lab wird die Gerinnungszeit bis auf einige Sekunden zurückgebracht. Indem nun eine gewisse Menge Lab in einer Platte diffundiert, wird ein bestimmter Punkt nacheinander alle Labenzymkonzentrationen enthalten haben, vom Grenzwert der größten Verdünnung ab bis zu einer ziemlich bedeutenden Konzentration, da das Enzym strahlenweise vom Mittelpunkt ausgeht. An diesem Punkt hat man also im Anfang eine solche Konzentration, daß die Milch erst nach einigen Stunden gerinnen wird. Dieses Lab fängt sogleich mit der Ausübung seiner Wirkung an; inzwischen beteiligt sich fortwährend mehr Lab an dieser Wirkung und die Gerinnungszeit wird nicht nur durch die Labkonzentration, sondern auch durch die Wirkung des Labs, welches schon vorher da war, herabgesetzt. Alle diese Einflüsse wirken zusammen, um im Augenblick, wo das weiße Feld erscheint, es uns unmöglich machen, zu bestimmen, wie groß die Labkonzentration ist. Wir wissen nur, daß die Konzentration kleiner ist als die, welche mit der Gerinnungszeit übereinstimmt. Für Vergleichungsproben haben wir mit diesen Tatsachen nichts zu machen, da diese für alle Fälle gleich sind. Jedenfalls entsteht auf der Platte ein weißes Feld, dessen Größe eben symmetrisch ist mit der Quantität Lab, welches auf die Platte gebracht wurde. Eine flüchtige Berechnung lehrt uns schon, wie außerordentlich scharf diese Reaktion ist. Bringt man in Milch 0,002 Proz. Labenzym in einer Konzentration von 10 Proz., so zeigt die Gerinnung sich schon nach 30 Minuten bei einer Temperatur von 30° C. Nehmen wir nun eine Milchagarplatte von 3 mm Schichthöhe und lassen hierin ein Gerinnungsfeld von 11 mm Durchmesser entstehen, ein ziemlich großes Feld, so wird, wenn wir die Gerinnung nach 6 Stunden bei 30° C beurteilen, die Labkonzentration darin weniger als 0,0002 Proz. Lab absolut betragen. In den von mir benutzten Platten legt das Lab eine Distanz von 20 mm Durchmesser in 2 Stunden zurück. Die Quantität Milch, welche sich in diesem Agarstückchen befindet, ist nur 100 cmm und die darin verteilte Menge Lab 0,0002 Proz. oder 0,0002 cmm, unzweifelhaft eine minimale Quantität.

Mit diesen Milchagarproben sind dieselben Beschwerden verbunden, welche sich bei der flüssigen Milch zeigen, nämlich, daß Säure und Labgerinnung nicht voneinander zu unterscheiden sind. Bringt man auf die Milchagarplatte einen Tropfen Säure, so wird dadurch auch ein weißes Feld gebildet. Diese beiden Felder zeigen uns einen unbedeutenden Unterschied, welcher außerdem noch wegfällt, wenn Säure und Lab zusammen ihre Wirkung ausüben. Ein von Säure gebildetes Feld hat immer einen klaren Rand, da an dieser Stelle die Säurekonzentration gerade diejenige ist, worin sich Kasein auflöst. Um diese beiden Gerinnungsweisen voneinander zu unterscheiden, kann man die Wirkung von Alkali auf geronnene Milch benutzen; durch Lab ausgeschiedenes



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kasein wird nicht durch Alkali aufgelöst, während das mit durch Säure ausgeschiedenem Kasein wohl der Fall ist. Man untersucht nun ein Gerinnungsfeld, indem man einen Tropfen Normalsodalösung an den Rand des Feldes legt, die Sodalösung diffundiert darin, und nun wird das Feld, wenn es durch Säure gebildet ist, aufgelöst, wenn es durch Lab gebildet ist, nicht. Wollen wir dieselbe Probe in flüssiger Milch ausführen, so machen wir die geronnene Milch schwach alkalisch und beobachten, ob die Flüssigkeit wieder neutral wird. Im Falle von Säuregerinnung wird das Alkali durch das saure Kasein gebunden. Bei der Untersuchung von Bakterien auf diesen Milchagarplatten müssen wir zwei Fälle unterscheiden, nämlich die Chymosinwirkung äußert sich katabolistisch oder auxabolistisch. Bei der katabolistischen Wirkung findet die Gerinnung schon statt, wenn man eine große Quantität der Bakterienkultur auf die Platte bringt. Bei der auxabolistischen Enzymwirkung jedoch muß die Bakterie wachsen, so daß wir in diesem Falle die Kultur über die Platte verteilen müssen.

Die Milchagarplatten eignen sich weiter auch sehr, wenn man aus unbekannten Bakterienmassen die gerinnenden Arten zu isolieren wünscht, wozu man die Bakterien sehr verdünnt über die Platte verteilt. Es ist hier unbedingt nötig, das Wasser über die Platte zu gießen und nicht, wie die Kochsche Methode sagt, das Wasser in die Platte zu bringen. Der Nährboden wird nicht sterilisiert und die Möglichkeit ist also sehr groß, daß ungewünschte Kolonieen in der Platte wachsen. Da diese Kolonieen sich in der Platte befinden, weiß man sogleich, daß diese nicht zu den zu untersuchenden Kulturen gehören, wenn man die Flüssigkeit über die Platte verteilt hat; während diese Kolonieen eine große Verwirrung verursachen, wenn man die Flüssigkeit in die Platte hineinmischte. In vielen Gegenden kann man nur schwer gute, frische Milch bekommen, dann wird man die Milch pasteurisieren müssen, bevor man Platten damit anfertigen kann. Man erhitzt dann die Milch für sich, kühlt sie ab und gießt die Platte davon. Eine kleine Bemerkung will ich noch machen in Bezug auf den Gebrauch der sterilisierten und pasteurisierten Milch des Handels. An Stellen, wo man keine frische Milch bekommen kann, wird man diese vielleicht benutzen. Diese Milch hat durch die Erhitzung nicht nur bedeutend an Gerinnungskraft verloren, jedoch die Möglichkeit der Anwesenheit von sporenbildenden Bakterien ist so groß, daß diese Milch vorher aufgekocht werden muß. Die Eigenschaft, durch Lab zu gerinnen, ist bei dieser Milch größtenteils verloren gegangen, so daß Bakterien, welche nur wenig Lab produzieren, auf der Platte keine Reaktion mehr geben. Die Fähigkeit, durch Säure zu gerinnen, wird durch das Kochen nicht benachteiligt. Es ist zu empfehlen, für das Anfertigen von Milchagarplatten nur abgerahmte Milch zu verwenden, da das Butterfett die Platten für Versuche vollständig ungeeignet macht.

## § 2. Chymosin, Trypsin, Pepsin.

Bringt man auf eine Milchagarplatte, wie im vorigen Paragraph beschrieben worden ist, eine Bakterie, welche proteolytisch Enzym produziert, Gelatine verflüssigt, so macht man bald die überraschende Entdeckung, daß die Bakterie auch gerinnend auf die Milch der Platte wirkt. Alle bis jetzt untersuchten Bakterien zeigen diese doppelte Enzymwirkung, wenngleich die beiderseitigen Verhältnisse der Enzymquantität oft sehr ungleich sind. Bald ist die Chymosinwirkung, bald die Trypsin-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wirkung die stärkere. Das fortwährende Zusammengehen dieser beiden Enzyme gibt Anlaß zu der Frage, ob es keine Wirkungen eines und desselben Enzyms sind, in diesem Falle des Trypsins, welches das Kasein erst koaguliert und nachher weiter auflöst. Da man dieselbe Eigenartigkeit bei Chymosin und Pepsin beobachtet, werden diese Fälle hier ausführlich besprochen und die Möglichkeit untersucht werden, ob es wirklich Wirkungen von ein und demselben Enzym sein können. Viele Untersucher, insbesondere Physiologen, haben sich mit dieser Sache beschäftigt, mit dem Erfolg, daß die Einenzymtheorie ebenso viele Anhänger wie Gegner bekommen hat. Unter den Anhängern jedoch gibt es mehrere, welche sich ein Enzym als ein riesenhaftes Molekül denken, das aus verschiedenen locker gebundenen Teilen besteht. Von diesen Teilen würde einer als Chymosin, ein zweiter als Pepsin, ein dritter als Pepton wirken u. s. w. Dies ist die Mehrenzymtheorie, da hier die Enzymwirkung von einem speziellen Körper ausgeübt wird, obschon sie diese Körper durch imaginäre Bindungen verbinden. Bevor wir jedoch die Untersuchungen besprechen, werden wir erst eine kurze Uebersicht mitteilen, wie Chymosin, Trypsin und Pepsin in der Natur vorkommen und auf welche Weise die technischen Enzympräparate zubereitet werden.

Pepsin. Dieses bekommt man hauptsächlich aus höheren Kreaturen, wie Menschen und Tieren, aus der Schleimhaut des Dünndarms, aus Darmsaft u. s. w. Bis jetzt hat man das Pepsin noch nicht aus Pflanzen isoliert. Man dachte ein Beispiel davon in der Drosera-Gruppe zu haben, einer insektenfressenden Pflanze, welche eine saure, proteolytisch wirkende Flüssigkeit absondert. Später fand man, daß es gewöhnliches Trypsin war. Da wir in einem neulich publizierten Buche[1]) eine derartige Korrektur finden, geben wir die Angabe von Baginsky[2]), der behauptet, daß Nepenthes hybridus, Nepenthes gracilis und Drosera rotundifolia Pepsin enthalten, nur unter Vorbehalt wieder.

Zum Anfertigen von Pepsinpräparaten sind die folgenden Methoden im Gebrauch:

Baginsky. Ein Stück von dem Dünndarm des Kalbes wird für wenige Minuten in Alkohol getaucht und sodann an der Luft getrocknet. Von dem getrockneten Darm wird die Schleimhaut abgezogen, in kleine Stücke geschnitten und mit 0,134 Proz. Salzsäure bei 44° C extrahiert. Dieses Extrakt hat eine sehr starke proteolytische Wirkung. Ein Extrakt mit verdünntem Glycerin ist fast ebenso stark, ein alkalisches Extrakt jedoch ist neutralisiert und dann mit 0,134 Proz. Salzsäure angesäuert noch nach Stunden völlig unwirksam.

Nencki und Sieber[3]) geben in ihrer Arbeit folgende Methoden:

Pekelharing: Man extrahiert den Fundus mucosa vom Schweinemagen mit 0,2-proz. Salzsäure und läßt durch Dialyse den Säuregrad auf etwa 0,02 Proz. sinken, wodurch sehr reines Pepsin ausfällt.

Schounow-Simanowski bekommt aus natürlichem Magensafte durch Abkühlen ein körniges Pepsin. Da nun das durch Kälte oder durch Dialyse abgeschiedene Pepsin, wie sie auf Grund zahlreicher Versuche behaupten, sowohl Eiweiß verdaut, wie auch Milch zur Gerinnung bringt, waren sie der Meinung zugetan, daß ein und dasselbe Molekül

1) Green, Reynolds, Fermentation. Cambridge (Univ. Press) 1901.

2) Baginsky, Ueber das Vorkommen und Verhalten einiger Fermente. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. VII. 1882—1883. p. 209.)

3) Beiträge zur Kenntnis des Magensaftes und der chemischen Zusammensetzung der Enzyme. (Z. Phys. Chem. Bd. XXXII. 1901. p. 291.)



Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

verschiedenartige Enzymwirkung hat. Sie bezeichnen es jedoch als ein Riesenmolekül, wovon die Seitenketten eine eigene spezielle Enzymwirkung ausüben.

Sundberg[1]) bereitete sich sehr reines Pepsin. Ein Kälbermagen wurde gut gereinigt und von dem Pylorusteile befreit. Dann von der Oberfläche des mit Wasser abgespülten Magens die oberste Schicht der Schleimhaut mit einem Uhrglase leise abgeschabt. Die so erhaltene Masse wurde mit einer abgewogenen Menge Kochsalz fein zerrieben und dann so viel Wasser zugesetzt, daß eine gesättigte Kochsalzlösung erhalten wurde. Nach Verlauf von 3 Tagen wurde filtriert und das NaCl durch Dialyse entfernt. Es war dabei notwendig, die Dialyse in angesäuertem Wasser vor sich gehen zu lassen, denn in neutraler Lösung wird das Pepsin rasch zerstört. Bei der Dialyse fand regelmäßig Ausscheidung von Proteinsubstanz statt, dabei wurde gleichzeitig Pepsin mit niedergerissen (auch geht Pepsin durch Diffusion verloren). Diese Lösung verdaut sehr kräftig und enthält so wenig koagulables Eiweiß, daß die Hellersche Eiweißprobe erst nach 3 Minuten eine deutlich sichtbare Reaktion gibt. Diese Lösung war noch von dem Labfermente verunreinigt. Dieses Ferment wird nun durch anhaltendes Erwärmen der sauren Lösung bei etwa 40° C zerstört und dabei das Eiweiß gleichzeitig in Pepton verwandelt. Nach Fortsetzung der Selbstverdauung während zwei Wochen zeigte die Hellersche Probe erst nach 9 Minuten die Andeutung eines Ringes und dabei wurde keine Herabsetzung der Verdauungsfähigkeit beobachtet. Behufs der weiteren Reinigung benutzte Sundberg noch anorganische Salze.

Später werden wir diese wichtige Trennung von Lab und Pepsin, die ursprünglich von Hammarsten ist, weiter besprechen.

Das technische Präparat bekommt man wie folgt: Schweine- und Hundemagen werden mit 2-proz. Salzsäure extrahiert. Hierbei löst sich der größte Teil der Schleimhaut. Man filtriert ab und klärt nach Scheffer mit einem neutralen Salz, wodurch die Proteosen ausfallen und fast alles Pepsin mitnehmen. Der Niederschlag wird getrocknet und kommt als ein gelbes Pulver in den Handel.

Trypsin. Dieses Enzym wird nicht nur in tierischen Körpern, sondern auch in zahllosen Pflanzen gefunden und von vielen Bakterien produziert. Für technische Zwecke ist noch immer das Rinderpankreas in Gebrauch. In den folgenden Pflanzen ist das Enzym mit Sicherheit nachgewiesen: Carica Papaya, Ananasta salva, Ficus carica, Cucumis utilissimus, Anagallis arvensis, Nepenthes Mastersiania und den Familien Sarracenia, Darlingtonia, Drosera, Drouvea und Pinguicula, weiter in den gekeimten Samen von Ricinus communis und Lupinus hirsutus. (Diese Namen sind aus R. G.) Butkewitsch[2]) untersuchte keimenden Pflanzensamen und fügte noch die folgenden Namen hinzu: Lupinus angustifoleus, Lupinus luteus, Vicia faba und Ricinus major. Wir selbst fanden starke proteolytische Wirkungen beim Milchsaft von Euphorbia lathyrus, Euphorbia palustris, Asclepias syriaca u. s. w. Es ist unzweifelhaft, daß die meisten Pflanzen proteolytische

---

1) Sundberg, C., Ein Beitrag zur Kenntnis des Pepsins. (Z. Phys. Chem. Bd. IX. 1885. p. 319.)

2) Ueber das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms in gekeimten Samen und über seine Wirkung. (Z. Phys. Chem. Bd. XXXII. 1901. p. 1.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Enzyme enthalten, die Untersuchungen auf diesem Gebiete sind aber noch viel zu unbedeutend.

Zur Gewinnung des Trypsins aus Rinderpankreas wird frisches Pankreas mit Sand zerrieben, die zerriebene Masse durch ein Colirtuch gepreßt, mit Alkohol gefällt und nach Entfernung des Alkohols ein wässeriges Extrakt dargestellt. Diese Flüssigkeit hat eine sehr starke proteolytische Wirkung. Baginsky gibt an, daß diese Flüssigkeit keine Labwirkung ausübte. Herrmann[1]) gewinnt das Trypsin in folgender Weise: Von anhaftendem Gewebe befreite Bauchspeicheldrüsen vom Schafe werden fein zerhackt und mit so viel syrupdickem Glycerin übergossen, daß der Gewebsbrei vom Glycerin völlig durchtränkt ist. Bei längerem Stehen bei Zimmertemperatur löste sich ein großer Teil der Drüse, ungefähr die Hälfte. Das Filtrat übt eine bedeutende verdauende Wirkung aus und ist nur wenig verunreinigt.

Chymosin oder Lab. Dieses Enzym, seit Jahrhunderten in der Käserei im Gebrauch, ist sowohl bei höheren Tieren als bei Pflanzen und Bakterien beobachtet. In uralten Zeiten benutzte man in der Käserei ausschließlich Pflanzenlab. R. Green nennt die folgenden Pflanzen: Pinguicula vulgaris, Galium verum, Drosera, Carica Papaya, und die keimenden Samen von Ricinus communis, Lupinus hirsutus und die Samen von Wilhania coagulans, Datura stramonium, Pisum sativum, weiter bestimmte Pflanzenteile von Clematis Vitalba, Cynara scolymus, Acanthosicyos horrida (wenn die Früchte reifen). Ich fand selbst eine starke labähnliche Wirkung bei dem Milchsaft von Euphorbia lathyrus, Euphorbia palustris und dem schwarzen Maulbeerbaum. Auch in dieser Hinsicht sind noch zu wenig Pflanzen untersucht. Nicht nur im Magen von jungen, milchbrauchenden Tieren und im Pankreas ist Lab nachgewiesen, sondern auch in vielen anderen Organen, sogar im Blut.

Alle praktisch nutzbaren Methoden zur Erhaltung von Labpräparaten gehen von einer NaCl-Extraktion aus. Söldner[2]) gibt das folgende Rezept: Man trocknet einen Kalbsmagen und bewahrt diesen 3 Monate, zerhackt ihn fein und extrahiert mit einer Lösung von 5-proz. NaCl. Jetzt fügt man so viel NaCl-Salz hinzu, bis die Konzentration 10 Proz. beträgt, dann fällt ein graubraunes, nicht ganz pepsinfreies Pulver aus, das so stark wirkt, daß Milch, der 0,0001 Proz. zugefügt ist, bei einer Temperatur von 35° C noch in 40 Minuten gerinnt. Blumenthal-Amerika (aus R. G.) bereitet ein reines Lab auf folgende Weise:

Ein Kalbsmagen wird fein zerhackt und während 24 Stunden bei 30° C mit 5-proz. NaCl-Lösung extrahiert. Diese Flüssigkeit wird filtriert und mit 1-proz. HCl-Lösung angesäuert, dann bildet sich ein Niederschlag, die Enzyme jedoch bleiben in der Lösung. Der Säuregehalt wird nun bis 5 Proz. HCl gesteigert und die Flüssigkeit mit NaCl Salz saturiert. Man schüttelt 3 Tage bei 30° C, wonach die Temperatur graduell bis 35° C erhöht wird. Man läßt sie 2 Tage ruhig stehen und sammelt nun den aufgestiegenen, flockigen, weißen Schaum. Dieser wird bei 28° C getrocknet, löst sich sehr gut in Wasser auf und ist fast reines Lab. Die Mutterflüssigkeit hat überhaupt keine koagulierende Wirkung mehr, doch wirkt sie stark peptonisierend. (Fortsetzung folgt.)

1) Herrmann, A., Ueber die Verdauung des Fibrins durch Trypsin. (Z. Phys. Chem. Bd. XI. 1887. p. 508.)
2) Die landw. Versuchsstat. Bd. XXXV. 1888. p. 418 Anm.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Ueber zwei Milchanaëroben der Buttersäuregruppe, welche in der Milch keine Buttersäuregärung hervorrufen.

Von Dr. **Antonio Rodella,** Padua.

[9. Mitteilung.]

Mit 2 Tafeln.

Vorliegende Mitteilung hat den Zweck, über zwei Anaëroben zu berichten, welche in normaler wie in verdorbener Milch häufig vorkommen und nach meinem Dafürhalten der Buttersäuregruppe angehören, ohne aber in der Milch selbst eine Buttersäuregärung hervorzurufen [1]).

Da das Studium der anaëroben Milchflora in letzter Zeit sehr viel an Interesse gewonnen hat und speziell die Frage der anaëroben Buttersäurebacillen immer noch ein großes Arbeitsfeld bietet, so dürfte hier die kurz skizzierte Beschreibung meiner zwei anaëroben Buttersäurebacillen am Platze sein.

Die 1. Art (Taf. I, Fig. 1, 2, 3) ist ein schlanker Bacillus, der sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen wie auch nach Gram färbt. Auf festen Nährböden ist der Bacillus gewöhnlich länger als in den flüssigen; er kommt auch in Form ziemlich langer Fäden vor. Er bildet rundliche, kleine Sporen, die meistens frei, manchmal aber endständig sind. Clostridium-Formen mit Jodfärbung habe ich nicht beobachtet [2]).

In Agar (hohe Schicht) bilden sich nach 24—48 Stunden kleine, runde Kolonieen, die auch im Laufe der Zeit nicht an Umfang zunehmen. Gasbildung fehlt gewöhnlich oder ist nur eine sehr mäßige (Taf. II, Fig. 7).

Agarstich wie Abbildung (Taf. II, Fig. 5).

Agarstrich (Taf. II, Fig. 6) ist nicht sehr charakteristisch. Die Kolonieen können hirsekorngroß werden. Sie sind kompakt, ohne Ausläufer, ziemlich erhaben in der Mitte, mit regelmäßigen Rändern. Kondenswasser wird nicht getrübt.

In Gelatine bleibt das Wachstum manchmal aus. In diesem Nährboden zeigen die Kolonieen nicht ein kompaktes Aussehen wie in Agar, sondern sehen watteähnlich aus.

In gewöhnlicher Bouillon spärliche Entwickelung; kräftige dagegen in der Beijerinckschen Lösung (5 g Pepton, 5 g Glukose auf 100 Wasser). Die Lösung wird trübe und es bildet sich ein staubiger Bodensatz.

Auf Kartoffeln wächst dieser Bacillus nicht, dagegen entwickelt er sich gut in Glycerinwasser, welches zur längeren Aufbewahrung den Kartoffelröhrchen zugesetzt wird.

Milch. Die Milch ist für diesen Bacillus ein ziemlich zusagender Nährboden. Es findet darin eine gute Entwickelung statt, ohne daß die Milch in ihrem Aussehen verändert wird. Der Säuregehalt ist etwas

1) Ein befriedigendes Urteil über die systematische Stellung dieser beiden Bakterienarten dürfen wir indessen von kompetenterer Seite erwarten, da Herr Prof. Arthur Meyer-Marburg im Besitze meiner Kulturen ist.

2) Die Mikrophotogramme verdanke ich der großen Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. med. S. Verson, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

erhöht und betrug durchschnittlich 20—30 ccm, in NaOH $\frac{N}{10}$ ausgedrückt.

Obwohl diese Acidität eine zu geringe war, um daraus über ihre Natur Schlüsse ziehen zu dürfen, nahm ich doch die fraktionierte Destillation (nach Duclaux) meiner Milchkulturen vor.

Bei einer 6-wöchigen Kultur ergab die fraktionierte Destillation folgende Zahlen:

| | |
|---|---|
| 1,3 | 13,13 |
| 1,1 | 22,24 |
| 1,1 | 35,35 |
| 1,0 | 45,45 |
| 1,0 | 55,55 |
| 1,0 | 65,65 |
| 0,9 | 74,74 |
| 0,9 | 83,83 |
| 0,8 | 91,91 |
| 0,8 | 100,00 |
| 9,9 | |

Gesamte Acidität der Kultur = 20 ccm

Acidität der flüchtigen Säuren = 10 ccm in NaOH $\frac{N}{10}$

Die Zahlen links bedeuten die Acidität der einzelnen Portionen des Destillats.

Die Zahlen rechts bedeuten die Acidität der Summe der einzelnen Portionen des Destillats im Verhältnis zu Hundert.

Eine zweite Kultur lieferte folgende Resultate:

| | |
|---|---|
| 13,33 | 66,66 |
| 26,66 | 76,66 |
| 36,66 | 86,66 |
| 46,66 | 93,33 |
| 56,66 | 100,00 |

Wie gesagt, kann man wegen der geringen Acidität meiner Kulturen auf die Resultate der fraktionierten Destillation keinen Wert legen. Dadurch wird nur ein weiterer Beweis geliefert, daß in den Milchkulturen von diesem Bacillus Buttersäure in nennenswerter Menge nicht gebildet wird. Buttersäure kann dagegen in der Beijerinckschen Lösung nachgewiesen werden, und zwar neben geringeren oder größeren Quantitäten von Milchsäure.

Man könnte also vielleicht annehmen, daß dieser Bacillus mit dem Bacillus lactopropylbutyricus von Tissier und Gasching identisch wäre. Von diesem unterscheidet er sich aber durch viele morphologische und kulturelle Eigenschaften. So sind z. B. die Agarkolonieen des letztgenannten Anaërobiums linsenförmig, diejenigen von meinem Bacillus aber rund. Mein Bacillus bildet spärlich Gas, derjenige von Tissier ist ein ausgezeichneter Gasbildner. Ferner beträgt die Größe der Agarkolonieen des Bacillus von Tissier und Gasching 2—3 mm im Durchmesser, die Kolonieen meines Bacillus sind bedeutend kleiner.

Der zweite anaërobe Bacillus (Taf. I, Fig. 4, 5, 6), welcher ebenfalls ein häufiger Milchbewohner ist, zeigt viele Aehnlichkeit mit den beiden Vertretern der Buttersäuregruppe, die von Grassberger und Schattenfroh beschrieben wurden. Es handelt sich in der Tat auch bei meinem Bacillus um ein 3–5 $\mu$ langes und 1 $\mu$ breites Stäbchen, welches sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen und auch nach Gram färbt.

Er wächst auch in Gelatine gut (Taf. II, Fig. 1), was ihn vom Granulobacillus saccharobutyricus mobilis unterscheidet.

In Zuckeragar sind die Kolonieen hirsekorngroß; manchmal können sie aber die Größe einer Erbse und darüber erreichen (Taf. II, Fig. 2, 3, 4).

In der Milch findet üppige Entwickelung statt.

Die Milch wird zur Gerinnnng gebracht, das Gerinnsel wird aber nicht aufgelöst. Aus der Gärung des Milchzuckers bildet sich ausschließ-

Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

lich Milchsäure. Flüchtige Säuren werden in so geringen Qantitäten in diesem Nährboden gebildet, daß von einer Bestimmung derselben abgesehen werden muß.

In der Milch ist also dieser Bacillus wie ein Vertreter der Milchsäurebacillen tätig. Er greift aber auch Glykose stark an, und aus der Gärung dieser Zuckerart bildet er neben anderen Produkten auch Buttersäure. Es muß hier besonders hervorgehoben werden, daß in der Beijerinckschen Lösung neben Buttersäure auch Baldriansäure in großer Menge gebildet wird.

Für die Rolle, welche von manchen Autoren den Buttersäurebacillen beim Käsereifungsprozesse zugeteilt wird, scheint mir diese kurze Notiz nicht ohne Interesse. Die Milchsäuregärung und die Buttersäuregärung infolge einer Gärung des Milchzuckers haben nicht so scharfe Grenzen, wie man vielerorts behauptet. Ich möchte sogar sagen, daß die Zersetzung der Eiweißkörper unter Einwirkung von Bakterien, welche früher für einen ganz unregelmäßigen Prozeß gehalten wurde, solange nur Anaëroben im Spiele sind, viel regelmäßiger vor sich geht, als die Zerlegung des Milchzuckers.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber eine als Żur bezeichnete Mehlteiggärung.

Von Dr. **Kurt Teichert** in Wreschen.

Unter den als Volksnahrung üblichen Gärungsprodukten findet sich in der Provinz Posen sowie im Königreich Polen bei der nationalpolnischen Bevölkerung eine beliebte Fastenspeise, welche allgemein als Żur (sprich weich: Schur) bezeichnet wird. Der Name Żur bedeutet ungefähr soviel als wie: „Unklares, Trübes, Dickliches". Nach der Mitteilung einer polnischen Zeitung soll jedoch Żur sich ableiten von dem ruthenischen zryć, fressen, weil durch die Gärung das Mehl „zerfressen" wird.

Zur Herstellung von Żur werden am liebsten unglasierte Töpfe genommen von bauchiger Form, welche nach oben zu in einen engeren Hals auslaufen. Die Zubereitung gestaltet sich folgendermaßen: Roggenmehl wird im Żurtopfe mit lauwarmem Wasser und etwas Sauerteig vom Bäcker zu einem dünnflüssigen Brei verrührt. Sodann bedeckt man den Topf mit einem Teller oder einer Blechstürze und stellt ihn in die Nähe des warmen Ofens. Hier setzt nach kurzer Zeit eine ziemlich stürmische Mehlteiggärung ein. Der Zusatz von Sauerteig darf nicht unterbleiben, damit die fertige Speise einen angenehmen, sauren Geschmack aufweist und keinen bitterlichen, was der Fall sein soll, wenn der Sauerteigzusatz aus irgend einem Grunde einmal unterblieben ist. Ein polnisches Sprichwort sagt über den Geschmack und die Beschaffenheit, die Żur haben soll: „Żur musi być tak rzadki, że jedna mąka drugą goni, a kwaśny, że swinia kwiczec musi, gdyby go dostata do żarcia", auf Deutsch: „Żur muß so dünnflüssig sein, daß ein Mehlstäubchen das andere jagt, und sauer, daß ein Schwein grunzen müßte, wenn es davon zu fressen bekäme". Nach 24 Stunden wird der vergorene Mehlteig aus dem Topfe entfernt und weggetan, worauf man von neuem in dem ungereinigten Topfe Roggenmehl mit lauem Wasser zu einem dünnflüssigen Brei anrührt. Auch dieser bleibt in der vorher beschriebenen Weise 24 Stunden

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lang stehen. Nunmehr wird die vergorene, saure Masse in kochendes Wasser gequirlt und die Speise „Żur" ist nach Zusatz der notwendigen Salzgabe fertig zum Verzehr. Auf dem Dorfe setzt man derselben häufig noch etwas Rüböl zu, in der Stadt jedoch meistens in Scheiben geschnittene gekochte Kartoffeln. Żur wird mit Löffeln aus tiefen Tellern gegessen und stellt eine dünnflüssige Suppe dar. In der Provinz Posen ist Żur bei der polnischen Bevölkerung eine spezielle Fastenspeise für Arme und Reiche, und wird hauptsächlich während der 6-wöchentlichen Fastenzeit vor Ostern genossen. Nach den Angaben meines Gewährsmannes, des Herrn Konditor Wenzel Ueberle in Wreschen, soll jedoch Żur in einigen Gouvernements Russisch-Polens bei den feinsten polnischen Familien auch das ganze Jahr über, speziell zum Abendessen, genossen werden. Ist kein Fasttag, so werden Scheiben gekochter Wurst (kiolbasa) zum Żur getan, was als große Delikatesse gilt. Der Żurtopf selbst wird niemals ausgewaschen, sondern stets wird eine Wenigkeit des „Sauers" darin zurückgelassen, um als Gärungs- und Säurewecker zu dienen.

Um nun eine exakte Vorschrift für die Bereitung von Żur zu erzielen, habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Ueberle eine Anzahl dahingehender Versuche angestellt. Auf Grund derselben bin ich zu folgenden Resultaten gelangt:

Zur Herstellung von Żur verrührt man im Żurtopfe 100 g halbfeines Roggenmehl (von Windmühlen gemahlen) mit 250 ccm Wasser von 40° C und 50 g Sauerteig vom Bäcker. Darauf stellt man den Żurtopf in die Nähe des warmen Ofens, um eine kräftige Mehlteiggärung zu erzielen. Nach 24 Stunden gießt man das erzielte Sauer bis auf 50 g weg und verrührt die verbliebenen 50 g Sauer von neuem mit 100 g Roggenmehl und 250 ccm Wasser von 40° C. Die angerührte Teigmasse bleibt gleichfalls 24 Stunden in der Nähe des warmen Ofens im bedeckten Żurtopfe stehen. Nach Ablauf der 24 Stunden quirlt man dieselbe bis auf einen Rückstand von 50 g in 1,5 Liter kochendes Wasser, läßt zweimal aufwallen und salzt nach Geschmack. Die Speise ist fertig und kann eventuell noch mit den oben beschriebenen Zusätzen versehen werden. Die im Żurtopfe verbliebenen 50 g „Sauer" können zur Żurbereitung für den nächsten Tag weiter verwandt werden.

Die Żurgärung im Topfe durchläuft folgende Phasen: 1) Gärung (Gasentwickelung, Schäumen), 2) Säuerung, 3) Kahmbildung. Die anfangs süßliche, breiige Masse geht schnell in Gärung über. Das Maximum der sichtbaren Gärung mit Gasaufsteigen und Schaumbildung ist nach ungefähr 6—12 Stunden erreicht. Dann fällt die Masse in sich zusammen und die Säuerung fängt an. Nach länger als 24 Stunden beginnt die Bildung von Kahmdecken. Die Säuerung zeigt eine gewisse Gleichmäßigkeit, was folgende Titrierungen des angesetzten „Sauers" beweisen:

| Nummer des Versuchs | Alter der Gärung | Verbrauchte ccm 1/4-Normallauge | entsprechend Proz. Milchsäure |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 Tag | 38 ccm | 0,8550 |
| 2 | 1 „ | 38 „ | 0,8550 |
| 3 | 1 „ | 39 „ | 0,8775 |
| 4 | 1 „ | 40 „ | 0,9000 |
| 5 | 1 „ | 45 „ | 1,0125 |
| 6 | 1 „ | 40 „ | 0,9000 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jedenfalls ist die Säuerung auch in hohem Maße von der Außentemperatur abhängig, dementsprechend sie langsamer oder schneller ansteigt. Ihren höchsten Wert erreichte sie mit dem Verbrauch von 45 ccm $^1/_4$-Normallauge (= 1,0125 Proz. Milchsäure), während das Mittel der Säureproduktion 0,9 Proz. Milchsäure betrug. Żur selbst enthielt als fertige Speise im Durchschnitt meist 0,20 Proz. Milchsäure. Daneben konnten durch die Liebensche Jodoformreaktion beträchtliche Mengen Alkohol nachgewiesen werden.

Die bakteriologische Analyse des verwendeten Sauerteiges zeigte auf Molkengelatine zahlreiche Kolonieen einer Heferasse von oblonger Form, mäßig zahlreiche Kokken von verschiedenen Dimensionen, einzelne Schimmelpilze und eine Kolonie Sarcina lutea.

Das fertige „Sauer" selbst bestand in allen Fällen gewissermaßen aus einer Reinkultur von oblongen Hefen in Gesellschaft von Milchsäurebakterien vom Typus des Bacterium lactis acidi. Nur der eine Typus von Bakterienkolonieen war neben den Hefekolonieen in mehr oder weniger ansehnlicher Zahl vertreten. Die mit dem Mehl und dem Wasser, sowie durch den Sauerteig in das Sauer gelangten Mikroorganismen waren nach kürzester Zeit vernichtet.

Die Żurgärung ist also eine unter Säuerung verlaufende Alkoholgärung, welche durch das Zusammenwirken von oblongen Hefen mit Milchsäurebakterien bewerkstelligt wird.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden.

## Ein Beitrag zur Methodik der mikrobiologischen Bodenforschung.

Von **Harald R. Christensen,** Kopenhagen.

Mit 4 Figuren im Text.

(Schluß.)

Es wurde also Phosphorsäure in sekundärem Kalkphosphat angewendet wie bei den übrigen Untersuchungen in Dikaliumphosphat, welches nicht benutzt werden kann, wo es sich darum handelt, die Wirkung des Kalis und der Phosphorsäure jede für sich zu beobachten. In der Voraussetzung, daß Natrium jedenfalls einigermaßen Kali ersetzen kann, habe ich Natriumphosphat nicht anwenden wollen, sondern sekundäres Kalkphosphat gewählt, welches nach Gerlach und Vogels Untersuchungen und einigen eigenen orientierenden Versuchen sich als eine vorzügliche Phosphorsäurenahrung für Azotobacter erwiesen hat. Im übrigen wurde der Versuch auf die gleiche Weise wie der vorige angestellt. Als Impfmaterial wurden Erdproben aus dem auf dem Lehmboden Askov gemachten Düngungsversuch benutzt.

In nachstehender Tabelle V finden sich die Resultate zusammengestellt.

Es geht hervor, daß in Nährflüssigkeit No. II, welche außer Mannit und Kalk nur Phosphorsäure enthält, in allen Fällen eine sehr kräftige Azotobacter-Vegetation hervorgebracht wird, während Nährflüssigkeit No. III, welche außer Mannit und Kalk nur Kali enthält, nicht den geringsten Ausschlag für diesen Stoff gibt. Ein Vergleich zwischen dem Verhalten der einzelnen Erden zu Flüssigkeit No. II und IV scheint jedoch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V. Versuch E.

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter-Vegetation: I. Mannit + $CaCO_3$ 5 Tage | I. 10 Tage | Vergärung des Mannits | II. Mannit + $CaCO_3$ + $CaHPO_4$ 1 Tag | II. 2 Tage | II. 3 Tage | II. 4 Tage | II. 5 Tage | II. 7 Tage | II. 10 Tage | Vergärung des Mannits |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A. a). Düngungsversuch Lehmboden Askov | | | | | | | | | | | |
| 1 | 20000 Pfd. Stalldünger | 0 | 0 | sehr stark | 0 | (++) | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | sehr stark |
| 2 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | 0 | 0 | sehr stark | 0 | (++) | ++ | +++ | +++ | ++++ | ++++ | „ |
| 3 | Superphosphat | 0 | 0 | stark | 0 | (+) | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | „ |
| 4 | Kainit | 0 | 0 | sehr schwach | 0 | (+) | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 5 | Chilisalpeter | 0 | 0 | keine | 0 | (++) | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 6 | Ungedüngt | 0 | 0 | sehr schwach | 0 | (+) | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 7 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | (+)–(++) | (+)–(++) | sehr stark | 0 | (++) | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter-Vegetation: III. Mannit + $CaCO_3$ + KCl 1 Tag | III. 2 Tage | III. 3 Tage | III. 4 Tage | III. 5 Tage | III. 7 Tage | III. 10 Tage | Vergärung des Mannits | IV. Mannit + $CaCO_3$ + KCl + $CaHPO_4$ 1 Tag | IV. 2 Tage | IV. 3 Tage | IV. 4 Tage | IV. 5 Tage | IV. 7 Tage | IV. 10 Tage | Vergärung des Mannits |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A. a). Düngungsversuch Lehmboden Askov | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 20000 Pfd. Stalldünger | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | sehr stark | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | sehr stark |
| 2 | Superphosphat, Kainit und Chilisalpeter | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | stark | 0 | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 3 | Superphosphat | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | stark | 0 | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 4 | Kainit | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | sehr schwach | 0 | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 5 | Chilisalpeter | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | keine | 0 | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 6 | Ungedüngt | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | sehr schwach | 0 | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |
| 7 | 20000 Pfd. Stalldünger + Superphosphat | 0 | 0–(+) | 0–(+) | + | (+)–(++) | (+)–(++) | (+)–(++) | sehr stark | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | „ |

Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

zu zeigen, daß Kali einen gewissen fördernden Einfluß auf die Entwickelung von Azotobacter ausübt.

Hieraus kann man den Schluß ziehen, daß die Ausschläge für Kaliphosphat in Versuch d ausschließlich oder jedenfalls ganz vorwiegend Ausschläge für Phosphorsäure gewesen sind. Mangel an diesem Stoff in einer dem Azotobacter zugänglichen Form ist es denn auch, der bewirkt hat, daß beim Impfen mit Erde aus den Chilisalpeterparzellen, sowie aus den nicht gedüngten Parzellen und den Kainitparzellen aus dem Lehmboden Askov die Mannitgärung in Flüssigkeit No. I entweder vollständig ausgeblieben ist oder doch nur eine sehr schwache war [1] (vergl. das Verhalten der einzelnen Erden in Flüssigkeit No. I und II). Durch diese Untersuchung ist es also gelungen, einen Ausdruck zu schaffen für die Ausmergelung hinsichtlich Phosphorsäure, welche eine Folge davon ist, daß man seit einer Reihe von Jahren den Boden zu düngen unterlassen oder ihn nur mit Kainit oder Chilisalpeter gedüngt hat. Daß Chilisalpeter für sich allein angewendet den Boden in besonderem Grade hat ausmergeln können, ist ein Ergebnis, das mit Beobachtungen gut übereinstimmt, welche bei dem Versuche selbst gemacht wurden, wo die Chilisalpeterparzellen jetzt geringere Erträge geben als z. B. die nicht gedüngten Parzellen; ein gleiches haben auch Erfahrungen aus dem praktischen Ackerbau gelehrt. Der Umstand, daß die anderen untersuchten Böden (selbst die aus dem mageren Heideland No. 23, Versuch d) sämtlich eine kräftige Vergärung des Mannits haben veranlassen können, deutet darauf hin, daß die Ausmergelung hinsichtlich Phosphorsäure bei den erwähnten drei Behandlungsweisen sehr weit gegangen ist.

Bei dieser Untersuchung konnten in den Erdproben aus dem Lehmboden Askov die folgenden drei Grade von Phosphorsäuregehalt konstatiert werden:

1) Keine oder nur sehr schwache Vergärung des Mannits (die Erdproben No. 4, 5 und 6).

2) Starke Vergärung des Mannits, aber keine Azotobacter-Vegetation (Erdproben No. 1, 2 und 3).

3) Schwache Azotobacter-Vegetation in Verbindung mit einer sehr starken Vergärung des Mannits (Erdprobe No. 7).

Eine Vergleichung der in den Tabellen I und IV verzeichneten Resultate zeigt, daß die Böden No. 21, 22, 32, 33, 35 und 41 sowohl Kalk als Phosphorsäure in genügenden Mengen enthalten haben, um eine üppige Azotobacter-Vegetation hervorbringen zu können. Demnach müßte man vermuten, daß diese Erden auch in einer Lösung, welche nur Mannit enthielt, eine kräftige Azotobacter-Vegetation entwickeln würden. Um hierüber zu entscheiden und zugleich die Richtigkeit der oben mitgeteilten Resultate kontrollieren zu können, stellte ich einen Versuch an, bei welchem die genannten Böden in folgende 2 Nährflüssigkeiten eingeimpft wurden:

1) Mannitlösung.

2) Mannitlösung $+ CaCO_3 + K_2HPO_4$.

1) Bei Untersuchung von Böden nach dem bei Versuch a angewandten Plane habe ich übrigens mehrfach genau entsprechende Ausschläge für Kalk beobachten können. Einzelne der untersuchten Erden konnten in der gebrauchten Nährflüssigkeit (Mannit + Kaliphosphat) keine Vergärung des Mannits hervorrufen. Daß der Grund hierzu lediglich Kalkmangel war, davon konnte man sich leicht überzeugen, wenn der Nährflüssigkeit eine geringe Menge kohlensauren Kalks zugeführt wurde, indem dann in allen Fällen eine kräftige Mannitvergärung eintrat.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sämtliche Kolben wurden mit Azotobacter-Rohkultur beschickt.

Das Resultat (siehe Tab. VI) zeigt, daß die obige Annahme zutrifft, indem sämtliche untersuchte Böden ohne Vorhandensein mineralischer Nährstoffe in der Nährflüssigkeit eine kräftige Azotobacter-Vegetation entwickeln konnten.

Tabelle VI. Versuch f.

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter-Vegetation Mannitlösung | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| 21 | Lehmboden aus Framerslev | 0 | ++ | ++ | +++ | +++ | + · + | +++ |
| 22 | Lehmboden aus Framerslev (überrieselt mit Mistwasser) | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ · | ++++ |
| 32 | Lehmboden aus dem Garten der Landwirtschaftl. Hochschule | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 33 | Lehmb. aus dem Unterrichtsfeld d. Landwirtschaftl. Hochschule | 0 | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 35 | Lehmboden aus Wium Mölle | 0 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 41 | Lehmboden aus Möen | 0 | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

| No. | Impferde Ursprung und Art | Azotobacter-Vegetation Mannitlösung + $CaCO_3$ + $K_2HPO_4$ | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 10 Tage |
| 21 | Lehmboden aus Framerslev | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 22 | Lehmboden aus Framerslev (überrieselt mit Mistwasser) | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 32 | Lehmboden aus dem Garten der Landwirtschaftl. Hochschule | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 33 | Lehmb. aus dem Unterrichtsfeld d. Landwirtschaftl. Hochschule | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 35 | Lehmboden aus Wium Mölle | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 41 | Lehmboden aus Möen | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

Ebenso wie ich bei der Untersuchung über das Verhalten der Azotobacter-Vegetation gegenüber Kalk über die Frage Aufklärung zu verschaffen suchte, welche Kalkverbindungen dieselbe ausnutzen kann, habe ich durch einige ebenfalls bloß orientierende Untersuchungen zu ermitteln versucht, in welcher Form die Phosphorsäure zugegen sein muß, um in die Azotobacter-Vegetation eingehen zu können. Aus dieser Untersuchung, welche ich später ergänzen zu können hoffe, geht hervor, daß Kalium-, Natrium- und Ammoniumphosphate, sowie sekundäres Calciumphosphat und Thomasmehl sehr leicht von der Azotobacter-Vegetation ausgenutzt werden, während Ferriphosphat, Aluminiumphosphat, reiner dreibasischer phosphorsaurer Kalk und Knochenasche der-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben ziemlich schwer zugänglich sind und Rohphosphate und Knochenmehl, wie es scheint, gar nicht ausgenutzt werden können.

Die auf Grund des Phosphorsäuregehaltes der Impferde entwickelte Azotobacter-Vegetation wird somit ein Ausdruck nicht für die absolute Phosphorsäuremenge, sondern für die Menge der (dem Azotobacter) zugänglichen Phosphorsäure, ein Ergebnis, das mir ziemlich wichtig scheint, indem es die Hoffnung rechtfertigen dürfte, daß eine Untersuchung nach dem erwähnten Prinzip Auskunft über das Phosphorsäurebedürfnis der einzelnen Böden verschaffen wird. Indes ist ja die Frage noch immer unentschieden, ob das Phosphorsäurebedürfnis der Azotobacter-Vegetation und ihr Vermögen, sich der in dem Boden enthaltenen Phosphorsäure zu bemächtigen, in einem bestimmteren Verhältnis steht zu dem — übrigens sehr verschiedenen — Bedürfnis und Bemächtigungvermögen der gezüchteten Pflanzen gegenüber diesem Körper. Um über diese Frage Klarheit zu bringen, muß die, natürlich immer noch sehr verbesserungsfähige Methode mit Düngungsversuchen im freien Felde in Verbindung gebracht werden.

Schließlich möchte ich nur noch darauf hinweisen, daß dieses ganze Untersuchungsprinzip in hohem Grade an das den Düngungsversuchen nach der indirekten Methode zu Grunde liegende erinnert. Ebenso wie bei einem Düngungsversuche wird auch hier gesäet und geerntet und Saaten erzeugt, deren Ausgiebigkeit in bestimmtem Verhältnisse zu dem Gehalt des Bodens an Pflanzennahrung in einer der Vegetation zugänglichen Form steht.

## Zusammenfassung.

1) Das Vorkommen des Azotobacter chroococcum und seine Verbreitung in den verschiedenen Böden steht in engem Zusammenhang mit der Basizität des Bodens (namentlich dessen Gehalt an kohlensaurem Kalk).

2) In der Entwickelung von Azotobacter, welche eine bestimmte Erdemenge in einer Mannit und Kaliphosphat enthaltenden Nährflüssigkeit erzeugt, kann man einen biologischen Ausdruck für den Gehalt des Bodens an kohlensaurem Kalk (beziehungsweise kohlensaurer Magnesia) erhalten.

3) Will man sich lediglich eine biologische Reaktion auf den Gehalt des Bodens an kohlensaurem Kalk verschaffen, so erhält man eine solche schärfer und sicherer sowie auch unabhängig von dem Zugegensein von Azotobacter in dem Boden, wenn man der erwähnten Flüssigkeit außer der Impferde noch eine kleine Portion einer Azotobacter-Rohkultur zuführt.

4) In ähnlicher Weise kann man einen Ausdruck für den Gehalt des Bodens an dem Azotobacter zugänglicher Phosphorsäure erhalten durch Anwendung einer Nährflüssigkeit, welche außer Mannit nur Chlorkalium und Calciumkarbonat enthält.

5) Außer kohlensaurem Kalk kann die Azotobacter-Vegetation auch Kalk in sekundärem Kalkphosphat ($CaHPO_4$), sowie ferner Kalk in Verbindung mit organischen Säuren, wie z. B. milchsaurem und zitronensaurem Kalk, ausnutzen, wogegen Kalk in dreibasischem phosphorsauren Kalk ($Ca_3(PO_4)_2$), Chlorcalcium und schwefelsaurem Kalk nicht ausgenutzt wird.

6) Als Phosphorsäurenahrung werden die Kalium- und Natriumphosphate, sowie sekundäres Calciumphosphat und Thomasmehl sehr

Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

leicht von der Azotobacter-Vegetation ausgenutzt, während ihr das Ferriphosphat, Aluminiumphosphat, der rein dreibasische Kalk und die Knochenasche ziemlich schwer zugänglich sind und Rohphosphate und Knochenmehl sich gar nicht ausnutzen lassen.

7) Dieses verschiedene Verhalten der Azotobacter-Vegetation gegenüber den verschiedenen Kalksalzen und Phosphaten scheint die Hoffnung zu rechtfertigen, daß es möglich sein wird, durch eine biologische Nährstoffbestimmung einen allgemeinen Ausdruck für den Gehalt des Bodens an Pflanzennahrung in einer den Pflanzen zugänglichen Form zu gewinnen.

8) Vorhandensein einer gewissen Menge Phosphorsäure (und Kalk) in dem Boden ist eine Bedingung, ohne welche letzterer überhaupt keine Mannitvergärung hervorrufen kann. Ein Boden (aus einem spezifischen Düngungsversuch an der Versuchsstation Askov), welche 12 Jahre lang ausschließlich mit Chilisalpeter gedüngt wurde, erwies sich als dermaßen ausgemergelt hinsichtlich der Phosphorsäure, daß er in einer Mannit, kohlensauren Kalk und Chlorkalium enthaltenden Nährflüssigkeit keine Mannitvergärung hervorzurufen vermochte. Aus der Untersuchung selbst geht hervor, daß hier eine sehr starke Ausmergelung hinsichtlich Phosphorsäure stattgefunden haben muß.

9) Bei einer Untersuchung, welche lediglich bezweckt, festzustellen, ob Azotobacter in einem bestimmten Boden vorkommt oder nicht, muß die Erdeprobe in solcher Weise entnommen und behandelt werden, daß jede Fremdinfektion ausgeschlossen ist, und möglichst schnell in eine Nährflüssigkeit eingeimpft werden, welche außer Mannit (oder sonstiger Kohlenstoffnahrung) noch sowohl Kalk als auch Phosphorsäure enthält. Will man dagegen lediglich die biologischen Reaktionen auf Kalk und Phosphorsäure hervorrufen, dann ist eine zufällige Infektion von keinerlei Bedeutung, und man wird zu einer solchen Untersuchung getrocknete und gesichtete Böden verwenden können.

---

Die oben beschriebenen Arbeiten wurden in dem agrikulturbakteriologischen Laboratorium der königl. Veterinär- und landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen ausgeführt. Für die entgegenkommende Bereitwilligkeit, mit welcher der Vorsteher dieses Laboratoriums, Herr Professor Dr. Fr. Weis, mir ein Arbeitslokal überlassen, sowie für das anregende Interesse, mit dem er meine Arbeit beehrt hat, drücke ich ihm meinen verbindlichsten Dank aus.

---

*Nachdruck verboten.*

# Eine Bakterienkrankheit von Zingiber officinale.

Von **Y. Uyeda** in Tokio.

(Vorläufige Notiz.)

Mit 2 Abbildungen.

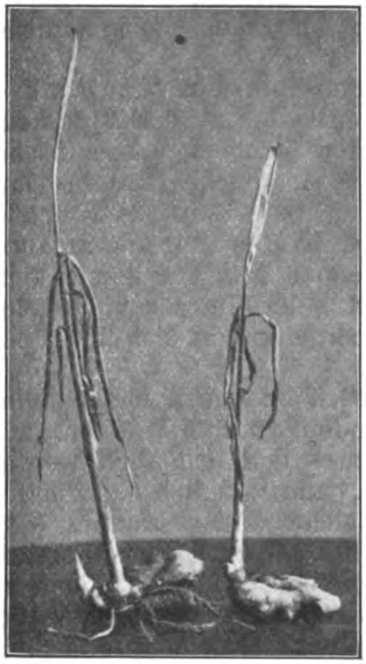
Vor 3 Jahren wurden mir aus der Umgebung von Osaka erkrankte Pflanzen mit Wurzeln von Zingiber officinale zur Untersuchung zugesandt. Die Wurzel mit jungem Sproß dient in Japan häufig als Gewürz. Es ergab sich, daß an der Basis des Sprosses eine Unmasse von Bakterien fast in Reinkultur vorhanden war und daß von da aus die Bakterien weiter in Wurzel und Sproß sich verbreiteten und in vielen

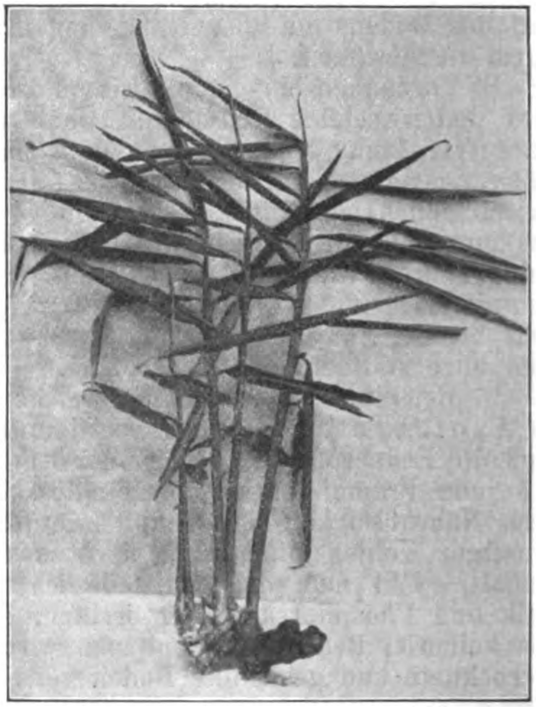
Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fällen die Blätter zum Verwelken brachten. Von diesen Bakterien wurde zunächst mittelst Plattenkultur eine Reinkultur gewonnen und mit dieser durch Injektion an der Sproßbasis vollständig gesunder Pflanzen die gleiche Krankheit in typischer Form wieder hervorgerufen. Bei näheren Studien ergab sich, daß dieser Mikrobe eine neue Species repräsentiert und noch am meisten Aehnlichkeit mit Bac. omnivorus





darbietet. Er bildet keine Sporen, ist nicht beweglich und verflüssigt Gelatine nicht. Bei Grams Färbung verhält er sich negativ. In Bouillon bildet er eine Haut, auf Peptonagar entwickelt er einen starken Geruch nach Trimethylamin. Er ist Aërobier. Weitere Mitteilungen werden in dem nächsten Bulletin unserer Versuchsstation zu Nishigahara bei Tokio folgen.

Tokio, 15. Juni 1906.

---

*Nachdruck verboten.*

# A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.

By **F. C. Harrison,**

Bacteriological Laboratories, The MacDonald College, Ste Anne de Bellevue, P. Q., Canada

With 8 Plates from photographs and 1 table.

(Conclusion.)

Kohl-rabi. On kohl-rabi of two varieties, which had been harvested in October and which were rather woolly at the time of inoculation in December, the organism produced pitting and soft rot, black

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

discoloration in the region of the vascular ring. Punctures made towards the centre of the root produced slight brownish to black discoloration and very slight pitting.

Salsify. In 24 hours there was a brownish moist discoloration and a softened area around the point of inoculation. The central cylinder of the root split and there was considerable softening on each side of the crack. In 48 hours there was a water soaked appearance; the crack enlarged and there was considerable softening on each side of the opening and the color was darker. In four days there was very considerable increase and the color was still darker a reddish black.

Green tomato. In 24 hours there was a small pit 3 to 4 mm. deep at the point of inoculation. In 48 hours the skin around the site of puncture was dark green in color and flattened out by the softening of the tissue beneath the skin. In four days the darkened area extended and pitted under pressure. On the eighth day the tomato was opened and the interior was found to be completely softened.

Ripe tomato. There was no change visible at the end of 48 hours. In four days there was slight softening and sagging of the skin. On the eighth day the tomato was cut open and about $^1/_3$ of the pulp was found to be softened.

Onion. On three different varieties there was considerable softening and a yellowish sputum-like growth. This increased very rapidly, completely rotting the onion in 6 days. There was a somewhat objectionable odor.

In all the above cases the control cultures remained sound and apparently healthy. In some cases there was a slight drying of the surface but no indication of any disease or rot. The quickest rotting, that is to say, softening and spreading from the site of inoculation, occurred on cucumber, parsnip, green tomato, potato, celery, cabbage, salsify, white and red carrot, radish and white turnip. The most characteristic growths occurred on white carrot (rusty red discoloration), mangold (dark red-brown discoloration), Swede turnip (greenish black discoloration), celery (brown-black discoloration), artichoke (red-brown), red beet and sugar beet (a non-spreading black pit) and potato (extensive softenig and blackish discoloration).

### Growth in acid and alkaline broth at 25° C.

The media used for this determination was made from Liebig's extract of meat 2,5 grams per litre, 1 % peptone, and distilled water. This was boiled, filtered and carefully neutralized with phenolphthalein as indicator. Various amounts of normal soda solution and normal hydrochloric acid solution were then added to flasks containing 40 ccm. broth. The flasks containing the alkali had some sediment after steaming and on this account they were again filtered and the media filled into test tubes and tested with the results given in the first column under acidity or alkalinity. The determinations of the amount of growth were made in duplicate, each tube receiving 1 oese of 24-hour-old bouillon culture. The figures in the tables mean as follows: 5 = abundant growth, diffusely turbid with sediment; 4, 3, 2 = diminishing turbidity and sediment; 1 = a very small flocculent deposit, the medium otherwise clear.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Growth on acid broth at 25° C.

| Acidity. No. of ccm of normal HCl per litre | At end of 24 hrs. | At end of 2 days | At end of 3 days | At end of 4 days | At end of 7 days | Acidity + or alkalinity — at end of 7 days |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Faintly acid. | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | + 2,0 |
| 1,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 1,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 1,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 2,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 2,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 3,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 4,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 4,5 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | + 5,0 |
| 9,0 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | + 7,0 |
| 12,0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | + 12,0 |
| 16,0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | + 16,0 |
| 18,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + 18,0 |
| 21,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + 21,0 |

Growth in alkaline broth at 25° C.

| Alkalinity [1]) | At end of 24 hrs. | At end of 2 days | At end of 3 days | At end of 4 days | At end of 7 days | Acidity + or alkalinity — at end of 7 days |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Neutral. | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | + 2,0 |
| 1,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 1,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 2,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 2,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| 3,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | — 2,0 |
| 3,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | — 2,0 |
| 4,0 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | — 2,0 |
| 7,0 | 0 | 3 | 4 | 5 | 5 | — 3,0 |
| 9,0 | 0 | 2 | 3 | 5 | 5 | — 4,0 |
| 13,0 | 0 | 1 | 2 | 5 | 5 | — 4,0 |
| 16,0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | — 6,0 |
| 18,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — 18,0 |

## Growth in fermentation tubes.

Three series of fermentation tube cultures were made. In each series the tests were made in duplicate. The base of the medium was Liebig's extract of meat bouillon and 1% peptone, reaction neutral; to this was added 2% of the various sugars tested. The tubes were held at 25° C and observations were made daily for two weeks.

Growth in the open arm. In 24 hours the bouillon in the open arms of all the tubes became clouded. The amount of cloudiness was greatest in the maltose broth and least in the glycerine. The turbidity increased for three days, but about the fourth day the broth began to clear in some of the tubes. On the 10th day there was very slight cloudiness in levulose, saccharose, mannite, glucose, lactose and glycerine, but in maltose the cloudiness persisted (18 days). A slight ring was formed on the glass in the bulb of the saccharose tube.

Growth in the connecting tube. There was a slight deposit

1) The number of ccm of normal sodium hydrate or normal hydrochloric acid solution per litre — Thus 16° = 16 ccm normal NaOH per litre. These reactions were determined after sterilization, one tube being titrated and two tubes inoculated.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in all tubes at the end of 24 hours. This increased with age and was most copious in those tubes in which the growth was heaviest, that is to say, most copious in the maltose tube and least in the glycerine. The deposit, which was at first fine, became slightly flocculent with age.

Growth in the closed arm. There was no growth in the closed arm in any of the tubes at the end of 24 hours. At the end of two days cloudiness developed in the closed arms of all tubes except the glucose tube, in which the cloudiness only extended 1/3 of the way up; the top 2/3 of the tube being clear; on the third day, however, this tube was entirely clouded. At the end of 10 days growth in the closed arms of the following tubes was clear: mannite, glucose, lactose. The other tubes remained clouded in the closed arm, but with less turbidity than was observed on the second day of growth.

Gas production. Gas was produced only in mannite and lactose. It appeared at the end of the third day and reached its maximum on the fourth day. 1 % to 4 % was formed in the lactose tube and 4 % to 8 % in the mannite tube. Control bouillon (bouillon without sugar), no gas.

Results in fermentation tubes.

| Medium, broth with 2 % of | Amount of gas in per cent. formed in | | | | | | Reaction to litmus paper of fluid in bulb | Composition of gas | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 day | 2 days | 3 days | 4 days | 6 days | 10 days | | $CO_2$ | Explosive |
| Glucose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | acid | 0 | 0 |
| Lactose | 0 | 0 | 1—4 | 1—4 | 1—4 | 1—4 | „ | 20 % | 80 % |
| Saccharose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ | 0 | 0 |
| Mannite | 0 | 0 | 2—8 | 4—8 | 4—8 | 4—8 | „ | 20 % | 80 % |
| Maltose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ | 0 | 0 |
| Levulose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ | 0 | 0 |
| Glycerine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ | 0 | 0 |
| Bouillon (control) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | neutral | 0 | 0 |

## Growth in hydrogen.

Two tubes of sloped potato agar, freshly boiled, two tubes of milk, one tube of bouillon were inoculated each with one loopful of fresh culture and placed in a Novy jar. This was connected with a Kipp apparatus and hydrogen generated, purified in the usual manner and allowed to pass through the jar for two hours. The jar was closed and kept for three days at room temperature (18—25°), the tubes were then taken out and examined.

Sloped potato agar, growth about 1/4 of the amount of aërobic cultures.

Milk, no perceptible change.

Bouillon, faint turbidity with slight sediment.

Beef peptone gelatine, stich culture, very slight growth. These tubes were then placed in the thermostat at 20°, when more abundant growth developed on all.

Viability. All the cultures unless otherwise stated were kept at 20°.

Milk. Acidity 0,3 %. 11 days, living; 23 days, living; 34 days, dead; 40 days, dead. Cultures kept at 25°.

Raw potato. 32 days living.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Cooked potato. 33 days, living; 52 days, living; 94 days, living.

Potato, Bouillon. 58 days, living; 103 days, living; 142 days, sterile.

Bouillon. 44 days, living; 65 days, living; 105 days, living; 160 days, living.

Gelatine. 44 days, living; 65 days, living; 105 days, dead; 186 days, dead.

Potato Agar. 75 days, living; 107 days, living.

Beef Bouillon. 47 days, living; 65 days, living; 88 days, living; 130 days, living.

Gelatine stich. 170 days, sterile.

Uschinsky. 28 days, living; 47 days living; 89 days, living; 168 days, living.

Exposure to sunlight. Heavily seeded agar plates were exposed to sunlight between 10 and 11,30 a. m. on December 3, 1904. One half of the plate was covered with black paper. The plates were seeded from a 24 hour old bouillon culture.

Results:

| | Exposed side | Shaded side |
|---|---|---|
| 10 min. | Numerous colonies | Very numerous colonies |
| 20 „ | „ „ | „ „ „ |
| 30 „ | Few „ | „ „ „ |
| 40 „ | „ „ | „ „ „ |
| 50 „ | „ „ | „ „ „ |
| 60 „ | Very few „ | „ „ „ |

The reduction in the number of colonies was marked at 30 minutes' exposure and then there was little difference between 30 minutes and one hour. On December 12th, the above experiment was repeated, but the seeding of the agar was not quite as heavy as in the first case.

Results. 10 minutes, slight reduction on exposed side; 20 minutes, 50 per cent reduction; 30 minutes, 90 per cent reduction; 40 minutes, 98 per cent reduction, 50 minutes, no colonies found.

Temperature relations. The optimum temperature is from 25—28° C, good growth occurs at 20° but at 37° C growth is very small, and as has been previously stated involution forms develop. 37,5° is about the maximum temperature for any growth, at 42° absolutely no growth occurred.

The minimum temperature is low, in raw potatoes very slight growth occurred on agar and potato gelatin cultures kept in the cold storage room at an average temperature of 33° F (0,56° C). At 40° F (4,44° C) growth was heavier. In all cases, however, considerable time elapsed before there was any appearance of growth.

The thermal death point in beef peptone bouillon, according to E. F. Smith's modification of Sternberg's method, was 54° C for 10 minutes.

Other experiments on the thermal relations were as follows: A series of potatoes, variety Empire State, were inoculated with a 24 hours old potato broth culture of the potato bacillus by means of a hypodermic syringe. The needle was thrust through the skin of the potato and the piston forced down a little and then withdrawn, a small drop of the culture remaining in the potato. The potatoes were then wrapped in wax paper and kept at various temperatures.

At 37° C for 1 month. A small blackened area at the point of inoculation 8 × 8 mm, the rest of the potato sound.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

At 25° C for 1 month. Both potatoes two-thirds softened, of this diseased portion about one quarter had turned into a cork-like blackened tissue.

At 20° C for 1 month. Both potatoes showed a large blackened area exteriorly, with a large cavity filled with black corky growth, gradually shading off from this color to that of the potato. The second was about two-thirds completely rotted, containing large cavities with black liquid exuding from the skin.

At 55° F (12,78° C) for 2 months. A small cavity filled with blackened corky tissue surrounded by a larger discolored layer. Two-thirds of the potato was sound. A control potato punctured with a sterilised needle was perfectly sound.

At 45° F (7,22° C) for 2 months. In both potatoes a slight discoloration along the needle track, 2 mm in diameter, otherwise potato perfectly sound.

At 40° F (4,44° C) for 2 months. Slight discoloration along the needle track in both potatoes. The rest of the potatoes perfectly sound.

At 35 to 36° F (1,67 to 2,2° C). Very faint discoloration along the line of puncture, otherwise perfectly sound in both potatoes.

At 33° F (0,56° C). Very faint discoloration along the line of puncture, otherwise perfectly sound in both potatoes.

At 28° F (— 2,22° C). Slight discoloration along the line of puncture, otherwise perfectly sound.

These experiments show the value of cool or cold storage for potatoes affected with the rot, and it is along these lines that potato growers will find the best measure of protection for this crop.

At the same time as the potatoes were put into the cold storage, three cultures, litmus milk, potato gelatin and potato agar, were placed in the various rooms and kept there for 2 months with the following results:

At 4,44° C. Potato gelatin, discrete colonies on the surface of the gelatin slope. Agar, fairly heavy growth along the line of puncture, slight raised growth on the surface. Litmus milk, pale lilac in color, no coagulation.

At 7,22° C. Potato gelatin, agar, a few small colonies at the bottom of the slope. Agar, fairly heavy growth along the line of inoculation. Litmus milk, no visible change.

At 2,2° C. A few very small discrete colonies along the gelatin slope. Agar stich, a filiform growth. Milk, no perceptible change.

At 1,67° C. A few small, discrete colonies at the upper end of the slope. Agar stich, a filiform growth. Litmus milk, no perceptible change.

At 0,56° C. Minute colonies only just visible to the naked eye upon the sloped surface. Agar stich, a filiform growth. Milk, no perceptible change.

These cultures were then placed in the gelatin incubator at 20° C and in 48 hours good growth had ensued, the milk had curdled.

Sterilized flour paste. The organism grew well on this medium in a thin, shiny layer, distinguished from the sub-stratum by its glistening appearance. With age the growth appeared slightly yellowish and spread slowly from the point of inoculation. After 14 days' growth Lugol's solution was poured on top of the paste. There was an im-

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mediate change to a violet-black color where there was no growth; but there was no change in color of the film of growth. When the surface was scraped off and fresh solution poured on there was a faint tinge of color, probably indicating the change of some of the starch to dextrin.

Soil extracts. Two soil extracts were made, one from rich garden earth and the other from rotted turf. 100 g. of each soil were boiled in 200 g. of distilled water and repeatedly filtered until the filtrate was quite clear. These extracts were about the same color as ordinary beef bouillon. The rot organism grew well in both these extracts, producing diffuse turbidity and sediment, but less in amount than in bouillon cultures of the same age. No pellicle or ring of growth developed in 10 days. No difference was perceptible in the character of growth in the two extracts.

Indol production in Dunham's solution. A number of tubes were inoculated, each containing 10 ccm. of Dunham's solution. After 7 days' growth at 25° C, some of the tubes were tested for indol by adding 10 drops of pure sulphuric acid and then 1 ccm. of a 0,02 % solution of sodium nitrite. There was no evidence of color even after standing for 10 minutes, but on warming the tubes, a faint pink coloration was noticeable. This test was repeated at the end of 14 days with the same results — no color when cold, but upon warming, a faint pink coloration. The color remained when the tubes were cooled. Uninoculated tubes gave negative results.

Indol production was also determined in sugar-free bouillon. Tested after 10 days' growth at 20° C, no color was noticeable when cold, but upon warming a decided red color was produced. The color persisted upon cooling.

Reduction of nitrates to nitrites. The organism grew fairly well in nitrate broth, and tubes tested after three days' growth at 25° C showed very strong reduction, the color being deep pink. Other tubes tested after 10 days' growth showed presence of abundance of nitrite, as evidenced by the deep red color on the addition of naphtylamine and sulphanilic acid. Control tubes incubated along with the inoculated tubes and for the same length of time gave no reaction when tested.

Production of hydrogen sulphide. Strips of filter paper, saturated with a solution of lead acetate, were suspended in inoculated tubes containing beef peptone bouillon, beef peptone agar, cooked potato. There was marked blackening of the papers in the bouillon and agar tubes and slight blackening of the paper in the potato tubes.

Production of acids. The acid production was determined in bouillon made from Liebig's extract of meat and 1 % of Witte's peptone made neutral to phenolphthalein. 2 % of the following sugars: maltose, mannite, lactose, glucose, and saccharose, were added to the bouillon and sterilized on three successive days at 100°. The cultures were made in Freudenreich flasks, and the titration was carried out with decinormal soda solution with phenolphthalein as indicator. The following table shows the production of acid in these various media:

(See Table p. 391.)

Effect on animals. The following animal inoculations were made:

Guinea pig, 495 g. Subcutaneous injection of 2 ccm. of a 48 hours old potato bouillon culture kept at 20° C.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| After sterilization and before inoculation | Inoculated | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | At end 24 hrs. | At end 2 days | At end 3 days | At end 6 days | At end 12 days | At end 18 days | At end 41 days |
| Bouillon neutral | 0,2 | 0,2 | 0,15 | 0,15 | 0,1 | 0,15 | faintly alkaline |
| „ 2 % Maltose 0,3 | 1,4 | 1,6 | 1,6 | 1,5 | 1,5 | 1,6 | 1,4 |
| „ 2 % Mannite, neutral | 0,8 | 1,1 | 1,4 | 1,4 | 1,4 | 1,8 | 1,5 |
| „ 2 % Lactose 0,1 | 1,0 | 1,4 | 1,4 | 1,4 | 1,2 | 1,8 | 1,5 |
| „ 2 % Glucose 0,1 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,6 | 1,4 | 1,8 | 1,4 |
| „ 2 % Saccharose 0,0 | 1,2 | 1,5 | 1,4 | 1,4 | 1,4 | 2,0 | 1,4 |
| Milk 1,4 | 2,4 | — | — | — | 4,6 | | |

Figures refer to the amount of $\frac{N}{10}$ soda to neutralise cultures.

Guinea pig, 370 g. Intraperitoneal injection of 3 ccm. of a 48 hours old potato bouillon culture kept at 20° C.

Rabbit, 725 g. Subcutaneous injection of 3 ccm. of culture mentioned above.

Rabbit, 785 g. Intravenous injection of 3 ccm. of culture mentioned above.

No results followed these inoculations, all the animals remained alive and well and gained constantly in weight during the six months they were under observation.

Economic aspects. Losses. Mention has been made of the prevalence of the disease throughout Canada, and its wide geographical distribution helps us to realise the very heavy losses that Canadian farmers have experienced of late years. The average yearly yield of potatoes in the Province of Ontario was approximately 18 000 000 bushels. The crop correspondent of the Bureau of Industries report for 1905 losses from the rot, ranging from 10 to 75 %. Taking the lower percentage and estimating the potatoes as being worth 40 cents a bushel, the financial loss would amount to $ 720 000 00. The average percentage of rot in 71 varieties of potatoes grown for 3 years in the Experimental Plots on the College farm was 22. These results obtained by actual count of rotted and sound potatoes would be in all probability more correct than the estimate given by correspondents of the Bureau of Industries. Included in those 71 varieties are many which are some what resistant to the rot but which are not generally grown; in the more popular varieties the percentage of rotted potatoes was much larger. The Professor of Field Husbandry for the College in his 1905 report states as follows: "It was found in 1904 that of the one hundred and four varieties of potatoes under experiment there was an average percentage of rot of 25,8 per cent. fort he ten earlist, 33,8 per cent. for the ten medium, and 10,9 per cent. for the ten latest varieties in reaching maturity. The results for 1905 show the relative percentages of rot to be 15,9 for the ten earliest, 24,6 for the ten medium, and 13 for the ten latest ripening sorts. It will, therefore, be seen that the medium ripening potatoes had the most and the latest ripening varieties the least rot in each of the two years."

What has been stated concerning Ontario conditions is also in a

Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Name of Organism. | Source. | Morphology: Bacillus | Morphology: Diameter | Morphology: Motile (flagella) | Morphology: Spores | Bouillon: Scum | Bouillon: Turbidity | Agar: Dull | Agar: Wrinkled | Gelatin plate: [illegible] colony | Gelatin stab: Funnel | Gelatin stab: [illegible] | Gelatin stab: [illegible] | Cooked potato. | Ferment tube: Growth in closed arm | Grows at body temperature | Liquefaction: Gelatin | Liquefaction: Casein | Liquefaction: Blood serum | Gas production in bouillon with: Dextrose | Lactose | Saccharose | Mannite | Glycerine | Nitrate reduced | Indol produced | Milk: Curdled No. of days | Milk: Acid | Milk: Alkaline | Chromogenesis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B. solanacearum Smith. | Diseased potato tomato | + | − | + | − | + | + | − | − | + ? | − | + | + | Smoke brown | − | + | − | − | | − | − | − | | | | | − | − | + | + |
| B. phytophthorus Appel. | Black leg disease of p | + | − | + 6 | − | − | + | − | − | + ? | + | + | + | Honey yellow | | | + | + | | | | | | | + | | + 8 | ± | ± | |
| Kramers Potato Rot Bacillus. | Rotted potatoes. | + | − | + | + | | | − | − | + | + | + | + | Dirty white Slimy gas | | + | | | | + | | | | | | | + | | | |
| B. solanicola Delacroix | Diseased potato plants | + | − | | | + | [illegible] | − | − | − | | | | | | | + | | | | | | | | | | | | | |
| B. atrosepticus van Hall | Diseased potato stems | + | − | + | − | | + | | | | | | | | | | + | | | + | − | + | + | − | + | − | + | | | − |
| B. solanisaprus Harrison. | Rotted potatoes & plants | + | − | + | − | Ring | + | − | − | + | − | ± | + | Dirty white | + | ± | + | − | − | − | + | − | + | − | + | + | + 2 | + | − | − |

| Name of Organism. | Raw Vegetables: Potato | Tomato | Egg-plant a | Carrot b | Sugar beet c | Swede Turnip d | White turnip e | Cucumber f | Parsnip g | Cabbage Cauliflower h | Onion i | Celery k | Radish l | Artichoke J. m | Living Plants: Potato | Tomato | [illegible] | Egg Plant a | Datura o | Physalis p | Cucumber f | [illegible] | Petunia r | Capsicum s | Schizanthus t | Collinsia u | Salpiglossis w | Ipomoea x | Animals: Rabbits | Guinea Pigs |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B. solanacearum Smith. | | | | | | | | | | | | | | | + | + | | + | + | + | − | | + | | | | | | | |
| B. phytophthorus Appel. | + | + | | + | − | − | | | | | | | | | + | + | + | | | | + | + | | | | | | | | |
| Kramers Potato Rot Bacillus. | + | | | | | | | | | | | | | | + | | | | | | | | | | | | | | | |
| B. solanicola Delacroix | | | | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | | | | | | | | | | |
| B. atrosepticus van Hall | ± | − | | ± | | | | ± | | − | | | | | + | | | | | | | | | | | | | | | |
| B. solanisaprus Harrison. | + | + | | + | ± | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | | − | ± | + | | − | + | − | − | − | − | − | − |

a. S. Melongena
b. Daucus carota
c. Beta vulgaris
d. Brassica campestris
e. Brassica Rapa
f. Cucumis sativus
g. Pastinaca sativa
h. Brassica oleracea
i. Allium cepa
k. Apium graveolens
l. Raphanus sativus
m. Helianthus tuberosus
o. Datura stramonium
p. Physalis crassifolia
,, philadelphica
r. Petunia violacea
s. Capsicum annuum
t. Schizanthus pinnatus
u. C. verna
w. S. sinuata
x. I. purpurea.

large measure true of the rest of Canada, except the North West Territories and Manitoba where potatoes are not grown so extensively as in the older provinces.

**Natural method of infection.** Undoubtedly one of the principal means of infection comes from the diseased condition of the seed potato when planted. In a large number of plants examined in the field the seed potato was found to be badly rotted and the young potatoes around were infected on the side nearest the rotted tuber. Whilst it is doubtful if the potato rot organism can penetrate the unbroken epidermis, yet, if a small amount of rotted potato is placed on the unbroken surface of a healthy tuber, it will in a short time cause infection, this is probably due to the large amount of cytase present in the rotted mass, which is able to bring about a solvent action on the cement substance of the cells of the healthy potato.

In the event of the organism living in the soil, or remaining alive in the soil, infection of the seed tuber might be brought about, even if the seed were perfectly healthy, especially if certain conditions which favor the spread of the disease were present.

Infection may also take place through wounds, as has been demonstrated repeatedly by inoculation methods. Whether or not insects take any part in spreading the disease cannot be definitely stated, no experiments were conducted on this point, but from our knowledge of the spread of bacterial diseases of other plants by means of insects, it would seem probable that this method of infection might occur.

**Condition favoring the spread of the disease.** A number of conditions influence the spread of the bacterial rot, the most import ant being the amount of moisture in the soil during the growing season. The following table collated from the Report of the Ontario Bureau of Industries shows that in those years in which the rainfall was heaviest during the months of July, August, and September the amount of rot was greatest, whilst in dry years the potatoes were comparatively free

Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

from the disease. This fact is well authenticated by the testimony of numerous correspondents, one repeatedly finds reference to the large amount of rot following heavy and continued rains, and on low lying, marshy, or clay soils the rot is always worse than on higher, better drained or lighter soils. When a large amount of rain is followed or accompanied by warm weather the most favorable conditions for the spread of the disease are present.

Precipitation. Province of Ontario.

| Months | 1882—1900 Average | 1900 | 1901 | 1902 | 1903 | 1904 | 1905 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| June | 2,80 | 2,83 | 2,14 | 3,92 | 3,83 | 3,20 | 3,53 |
| July | 2,63 | 3,96 | 3,89 | 5,49 | 4,09 | 3,50 | 3,55 |
| August | 2,50 | 2,15 | 2,78 | 2,02 | 3,77 | 3,76 | 3,24 |
| September | 2,62 | 2,73 | 2,78 | 3,53 | 2,21 | 3,24 | 2,53 |
| Apr. — Sept. (6 months) | 15,22 | 15,22 | 17,95 | 19,63 | 18,29 | 19,96 | 17,41 |

1900. Reports regarding potatoes favorable. The crop is a good one both as to yield and quality. If anything, the crop suffered more from drought than rain.

1901. Reports as to potato crop very favorable. In the eastern section a great proportion were destroyed by rot, especially on clay soils and low-lying lands. More favorable accounts from the west, there this disease is not nearly so prevalent.

1902. Since the August bulletin, when potatoes were booked for a large yield, rot has appeared among the crop in practically every part of the Province. The loss from rot being variously estimated at from 10—50 %. Some state that on certain fields the rot was so bad that the crop would be let go altogether. In some districts the rot was preceded by blight, whilst in other quarters the potatoes appeared to rot as they were dug.

1903. Rot developed at the time of digging in almost every section of the province, the extent of the rot varying from 10—60 %. Disease especially prevalent on heavy soils or on low-lying lands.

1904. Considerable rot has appeared, more especially where the crop was grown on heavy soils or on low-lying lands. The extent of the loss is variously estimated at from 20—50 %. This year was extremely wet. The rainfall was four inches above the average of the previous 22 years.

1905. Almost up to the time of digging an immense yield of potatoes was promised, but rot set in and many correspondents report losses from this cause in both pit and cellar, ranging from 10—75 %. Reports of freedom from rot have been the exception and the most favorable accounts come from the newer northern districts. (The rainfall in October was 0,73 inches greater than the average of the 22 years, 1882 to 1904, and the temperature for September and October 2° and 1° higher than the average.)

The vitality of the plants may also be lessened by attacks of insects and fungi, which impair the vigor of the plant and consequently predispose it to the bacterial disease.

Certain varieties, under field conditions, are more immune than others, the reasons for this cannot be stated as we have found that plants of these immune varieties are easily infected by artificial inoculations. Tubers of different varieties when inoculated with a few drops of a culture of B. solanisaprus, and kept under identical conditions do occasionally behave differently, the progress of the rot being quicker in some varieties than others, this immunity of the tuber seems inherent and accurate chemical studies might explain these differences. The moisture or starch content of the potato may be influencing factors.

Methods of prevention. These stated in their order of importance, are suggested in the previous paragraph, they are:

1) Planting of rot resisting varieties.
2) Planting seed potatoes that are free from all rot.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Planting in well drained land, or land which is not likely to become waterlogged.

4) Reducing the number of insects by the use of Paris green or other reliable insecticides, and preventing the growth of fungi by the use of the Bordeaux mixture.

5) Rotation of crop. The planting of potatoes in the same soil year after year, as practiced in many gardens, is liable to give rise to greater infection, hence the advisability of a rotation of crops.

Such measures as treating the seed tubers with formalin or copper sulphate solutions are of little use as these disinfectants do not penetrate very far, and hence the bacteria in the interior of the tubers are unaffected. Marre has made a number of experiments on this method of treatment but found that no positive relief was obtained.

**References.**

Appel, O., Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bakterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel. (Arbeiten a. d. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. III. 1903. Heft 4.)

Smith, E. F., Bacterial disease of tomato, egg-plant and Irish potato. (U. S. Dept. of Agric. Washington, D. C. 1896.)

Prillieux et Delacroix, La gangrène de la tige de pomme de terre. (Comptes rendus. T. CXI. 1890. p. 208. Juillet.)

Zavitz, C. A., Ontario Agricultural College Report. Vol. XXXI. 1905. p. 196.

—, Blackleg or potato stem rot. (Board of agriculture and fisheries. Leaflet No. 117. London 1904.)

Delacroix, G., Sur une maladie bacterienne de la Pomme de terre. Contribution a l'étude d'une maladie nouvelle de la pomme de terre produite par le Bacillus solanincola nov. sp. (Compt. rend. de l'Académie des Sciences. T. CXXXIII. 1901. p. 417 and 1030.)

Butler, E. J., Agr. Ledger. 1903. No. 4. p. 87—124. Potato diseaess of India.

Tryon, H., Potato disease. (Queensland Agricultural Journal. Vol. V. 1899. p. 54.)

Kramer, E., Bakteriologische Untersuchungen über Naßfäule der Kartoffelknollen. (Oesterreich. landwirtsch. Centralblatt. Jahrg. I. 1891. Heft 1. p. 11—26.)

Van Hall, C. J. J., Bijdragen tot de kennis der bakterieele plantenziekten. Amsterdam 1902.

Marre, E., Prog. (Agr. et Vit. Vol. XXIV. 1903. No. 17. p. 526. B. Solani.)

Battonchon, G. Prog. (Agr. et Vit. Vol. XXIV. 1903. p. 77.)

Carrè, Prog. (Agr. et Vit. Vol. XXIII. 1902. p. 429.)

Laurent, E., Recherches expérimentales sur les maladies des plantes. (Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. p. 1. Journ. Dept. Agric. u. Tech. Ind. Vol. III. 1902. No. 1. p. 82.)

**Explanation of the plates.**

Fig. 1. Potato plant punctured at *P* with a fine needle charged from a potato agar culture. 4 days after inoculation.

Fig. 2. Plant 19. Variety Empire State. The two inoculated stems on the left. Photographed 3 days after inoculation.

Fig. 3. Plant 25. Variety Main Crop. Two stems inoculated by needle pricks. Photographed 6 days after inoculation.

Fig. 4. A control plant pricked in stems and petioles with sterilised needle. Photographed 15 days after this treatment.

Fig. 5. Plant 20. Variety Empire State. The seed potato was slightly acratched and 1 mm loopful of culture spread over this part. Photographed 26 days after inoculation.

Fig 6. Two Tomato plants inoculated with one needle puncture in each. One control plant punctured in several places with a sterilised needle. Photographed 5 days after inoculation.

Fig. 7. Physalis sp. One plant inoculated at *P* with a needle puncture, and one control plant punctured in several places with a sterilised needle. Photographed 6 days after inoculation.

Fig. 8. Capsicum annuum. Two inoculated plants each with one needle punc-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ture at *P.* Control plant punctured in the stem with a sterilised needle. Photographed 3 days after inoculation.

Fig. 9. Sugar agar cultures of B. solanisaprus. Note the gas bubbles in tubes marked mannite and lactose.

Fig. 10. Diseased potatoes cut in half. Natural infection.

Fig. 11. A slice of raw potato inoculated with B. solanisaprus. Photographed after 2 days' growth at 20° C.

Fig. 12. Diseased potatoes, natural infection. B. solanisaprus was isolated from the upper tuber.

Fig. 13. Section of tomato stem, showing B. solanisaprus in vessels. × 325.

Fig. 14. Surface colonies of B. solanisaprus grown in beef peptone gelatine for 4 days at 20° C. × 15.

Fig. 15. B. solanisaprus from an agar culture 24 hours at 25° C. × 1000.

Fig. 16. B. solanisaprus. Involution forms from an agar culture 24 hours at 37,5° C. × 1000.

Fig. 17. B. solanisaprus. Flagella from an agar culture 24 hours at 20° C. × 1000.

---

*Nachdruck verboten.*

# Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées.

Par **Paul Cruchet.**

Avec 5 figures, 5 diagrammes et 1 planche.

(Suite.)

## Essai 12.

Commencé le 21 août 1905.

Matériel provenant de la même station que les aecidies de l'essai 9 (Belmont entre Corcelles près Payerne et Léchelles). Malgré la grande quantité d'aecidies qui y étaient auparavant je dus prendre nombre de feuilles pour avoir assez d'urédos à ma disposition; les larves oranges de Diplosia avaient fait beaucoup de mal.

| | Plantes | Provenance |
|---|---|---|
| 1 et 2. | Mentha longifolia | Payerne |
| 3. | „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 4. | „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 5. | „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 6. | „ No. 3 | „ „ „ „ „ ? |
| 7. | „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 8. | „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 9. | „ viridis | Jard. bot. de Berne |
| 10. | „ „ | Graines du jard. bot. de Paris |
| 11. | „ „ | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 12. | „ arvensis var. parietariaefolia | „ „ „ „ „ ? |
| 13. | „ dumetorum var. nepetoidis | Payerne |
| 14 et 15. | Satureya hortensis | Graines de divers endroits |

Ces 15 plantes sont mises sous cloche selon la manière habituelle. Les suivantes sont mises dans une caisse dont le devant est fermé par du papier huilé (voir p. 213); l'humidité s'y est bien maintenue pendant les 2 jours et 3 nuits que les plantes y ont passé.

| | | |
|---|---|---|
| 16. | Mentha longifolia | Payerne |
| 17. | „ rotundifolia (petite et jaunâtre) | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 18. | „ „ (grande et bien verte) | „ „ „ „ „ „ |
| 19. | „ viridis | Jardin bot de Berne |
| 20. | „ „ | Graines du jard. bot. de Montpellier |
| 21. | „ arvensis | Payerne |

Sur porte-objet bonne germination au bout de 12—15 heures. Beaucoup de spores étaient déjà vides.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Toutes les plantes étaient en pleine végétation et n'avaient aucunement souffert de leur séjour en chambre humide. Seul M. arvensis var. parietariaefolia meurt un peu plus tard.

Vers le 10 septembre l'une des deux plantes de Satureya hortensis a un seul petit amas d'urédos, mais qui disparaît le 13. A cette date un examen minutieux m'a fait voir de rares amas sur:

Mentha longifolia, 2 plantes, sur 3
„ No. 1, amas très petits
„ No. 3, amas rares
„ rotundifolia (No. 18), amas gros et peu nombreux.

Toutes les autres plantes étaient indemnes, et, moins d'une semaine plus tard, seule une tache brune indiquait encore la place occupée par les amas sur les plantes citées.

Ce résultat presque complètement négatif est assez singulier, d'autant plus que quelques unes des plantes avaient été infectées avec succès dans l'essai 9 avec des aecidies du même endroit.

### Essai 13.

Commencé le 26 septembre 1905.

Une série de bons urédos provenant de Montagny s/Yverdon me permit d'infecter à nouveau les plantes de l'essai précédent. La quantité de spores répandues fut très considérable et sur le porte-objet la germination s'est montrée bonne, quoique lente, évidemment à cause de la température beaucoup plus basse qui régnait à ce moment là.

Plantes infectées:

Nos. 1—21 comme pour l'essai précédent sauf les Nos. 12, 14, 18, 19 et 21 qui n'ont pas été réutilisés.

No. 22. M. aquatica, provenant de Payerne.

A l'arrivée des gels d'octobre, soit environ 4 semaines plus tard, il n'y avait encore aucun amas formé. Quelques jours plus tard, le 11 novembre soit plus de 6 semaines après la mise en train de l'essai, de nombreux petits amas naissants de téleutospores se voient sur les plantes suivantes:

No. 2 (Mentha longifolia); quelques amas sur les seules feuilles vigoureuses qui restent encore. Le No. 1 est gelé.

No. 3 (M. alpigena); nombreux amas sur les jeunes pousses.

No. 4 (M. No. 1); même remarque.

No. 5 (M. No. 2); quelques taches sur les feuilles qui meurent.

No. 6 (M. No. 3); rares amas sur les feuilles âgées, rien sur les jeunes pousses.

No. 9 (M. viridis) n'a que 3 amas assez nets et paraissant plus âgés que les autres; les autres viridis n'ont rien et on peut supposer que ce No. 9 a été infecté par des M. viridis malades situées non loin de la serre.

Satureya hortensis a terminé sa période de végétation depuis longtemps déjà (septembre).

Malgré un examen minutieux fait même à la loupe, les autres plantes n'ont rien présenté d'anormal.

Le point intéressant de cet essai est le grand retard qui s'est produit dans l'arrivée des téleutospores et l'apparition de celles-ci sur de toutes jeunes feuilles des pousses radicales de l'été. Il n'a en outre pas été possible de découvrir un seul urédo.

Une comparaison entre les essais 10, 11, 12 et 13 semble montrer que le pouvoir d'infection des urédospores diminue dans les générations successives. La durée de l'incubation augmente et la quantité d'amas produits diminue.

## II. Essais avec spores provenant de Mentha viridis L. var. piperella Lej.

### Essai 14.

Fait en août—novembre 1905.

Vers la fin d'août 1905 je trouvai à ma grande surprise, un pied de Mentha viridis, du carreau des plantes en réserve pour les essais, complètement couvert de jeunes urédos et très peu de jours après, d'autres pieds situés ailleurs dans le même carreau devinrent malades à leur tour. D'où venait l'infection? Des expériences elles-mêmes faites en serre non loin de là, d'un jardin où M. viridis pouvait être malade, ou d'une autre Menthe plus ou moins éloignée? L'hypothèse la plus probable est la seconde, car les M. longifolia, aquatica ou arvensis, les premières en cause dans le cas d'une infection provenant du voisinage, étaient indemnes. D'autre part ces viridis provenaient des plantes saines l'année précédente; il ne peut donc être question ici de mycélium vivace. Les insectes, diptères surtout, visitent activement ces menthes depuis le commencement d'août jusqu'au milieu de septembre, et ont pu, en allant non seulement sur les fleurs, mais aussi sur les feuilles, transporter des spores de très loin.

Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Les conditions climatériques de la fin d'août, très favorables au développement du parasite, m'engagèrent à considérer les plantes des deux carreaux contaminés comme formant un essai, laissant ainsi aux agents naturels le soin de disséminer les spores, travail qui sans doute était déjà accompli. En effet dans les premiers jours de septembre M. rotundifolia a des urédos bien formés sur les branches voisines de M. viridis. M. longifolia n'a rien.

Vers le milieu de septembre seulement des urédos apparaissent ici et là et sont peu à peu remplacés par les téleutospores. Le 7 octobre l'état des 2 carreaux est le suivant:

Toutes les M. viridis, en pots et en terre, sont atteintes, même les deux pots éloignés de plusieurs mètres de celui où l'infection a commencé. Autour de ce bouquet principal formé de plusieurs pieds se trouvaient M. rotundifolia, dumetorum, aquatica et longifolia (Payerne). Leurs branches en contact direct avec M. viridis n'ont rien eu, sauf M. rotundifolia dont les urédos, vus au commencement de septembre, ont disparu peu après sans laisser de traces. (Il faut toutefois en excepter un pot qui, utilisé pour un autre essai, donne en serre quelques amas d'urédos, suivis d'amas fugaces de téleutospores à tubercules petits.) M. longifolia a présenté des amas d'urédos mais en très petit nombre et le 7 octobre il n'y a qu'un seul amas de téleutospores à découvrir sur la touffe entière. Un autre pied de cette même Menthe, un peu plus éloigné, n'a rien eu.

Les Mentha No. 1 et No. 3, alpigena, viridis var. crispata n'ont que des amas épars, et seulement sur quelques feuilles. Une autre M. viridis var. crispata n'a rien, ainsi qu'un certain nombre de pieds d'arvensis; cependant à chaque extrémité du carreau on voit des M. viridis malades.

D'autres M. aquatica, la M. pip. var. citrata, et les Satureya Calamintha (var. silvatica, ascendens et Nepeta) n'ont absolument rien. Les Satureya hortensis étaient sèches à ce moment là.

L'impression laissée par cet examen est que la forme sur M. viridis ne passe que difficilement sur les autres Menthae spicatae, même sur la M. viridis var. crispata, et pas du tout sur les autres (aquatica, citrata, arvensis et dumetorum). M. longifolia elle-même est restée presque indemne, ce qui prouve que l'infection a bien été produite par des spores venues d'une M. viridis.

### III. Essais avec spores provenant de Mentha arvensis L.

Les 14 et 17 mai 1904 des essais sont entrepris avec des téleutospores provenant d'un champ près de Montagny s/Yverdon, et récoltés en mars 1904. Des 28 plantes employées aucune n'a présenté de phénomène d'infection, et la non réussite sur la seule Mentha arvensis qui s'y trouvait oblige de laisser ces essais de côté.

Essai 15.

Commencé le 9 juin 1904.

Une nouvelle tentative est faite avec le matériel cité plus haut sur une Mentha arvensis en employant un très grand nombre de spores. La plante était déjà assez avancée, et les essais de germination nuls à ce moment là.

Le 27 juin, 18 jours après la mise en train, la tige et un pétiole se boursoufflent.

Le 13 juillet la tige a des pycnides seulement. Le gonflement s'est arrêté et la partie supérieure se dessèche. Sur une feuille où se trouvait, les jours précédents, une tache avec pycnides, il s'est développé un gros amas d'urédos entouré d'un grand nombre de plus petits.

Le même mycélium a donc produit ici des pycnides, puis beaucoup plus tard des urédos, et ce développement rappellerait les Brachypuccinia.

Essai 16.

Commencé le 15 mai 1905.

Le matériel téleutosporifère provient du même champ que celui de l'année précédente; il a été récolté et mis en sacs le 14 octobre 1904. La quantité de spores disponibles était si considérable qu'elles coloraient en brun foncé l'eau qui les tenait en suspension.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Payerne |
| 2. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 3. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 4. „ No. 3 | „ „ „ „ „ ? |
| 5. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 6. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 7. „ viridis | Jardin bot. de Berne |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| Plantes | Provenance. |
|---|---|
| 8. Mentha viridis | Graines du jard. bot. de Montpellier |
| 9. „ arvensis | Payerne |
| 10. „ aquatica | „ |
| 11. Satureya hortensis | Semis de ? |
| 12. „ „ | Graines du jard. bot. de Paris |

En chambre humide la germination est absolument nulle, même après psusluier jours.

Le 2 juin on commence à voir de légers boursoufflements et le 5 juin le résultat devient positif sur les plantes suivantes:

No. 2 (Mentha alpigena) a des aecidies sur le bord d'une seule feuille.

No. 6 (M. rotundifolia) a des aecidies mûres, même déjà sèches et un amas frais sur la tige.

No. 9 (M. arvensis) a des pycnides et des aecidies presque ouvertes.

No. 11 (Satureya hortensis) deux aecidies sur deux feuilles.

Le 14 juin les aecidies meurent. Sur Sat. hortensis il y eut encore quelques amas, mais d'urédos. Il se peut fort bien qu'ils aient été produits par des spores aecidiennes voisines.

## Essai 17.

Commencé le 8 juin 1904.

Matériel consistant en aecidies et urédos mélangés et provenant de la même station que pour les essais précédents. Les aecidies sont sur les parties les plus inférieures des plantes encore jeunes.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha arvensis | Berne |
| 2 et 3. „ longifolia | Corcelles près Payerne |
| 4 et 5. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 6. „ „ var. crispata | Corcelles près Payerne |
| 7. „ aquatica | Dahlhölzli (Berne) |
| 8. „ „ | Wabern (Berne) |
| 9. Satureya Clinopodium | Berne |

Le No. 1 (Mentha arvensis) seul présente un résultat positif. Les urédos y apparaissent après 10 jours d'incubation, soit le 18, et sont répartis sur toute la plante. Le 5 août ils commençaient même sur la tige.

## Essai 18.

Commencé le 30 juin 1904.

Le 29 juin je reçus un nouvel envoi de M. arvensis avec beaucoup plus d'urédos. J'y joignis encore les feuilles les plus malades de la M. arvensis de l'essai précédent. Il fut possible ainsi d'infecter abondamment les plantes suivantes:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha arvensis | Berne |
| 2. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 3. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 4. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 5. „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 6. „ No. 3 | „ „ „ „ „ „ |
| 7. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ „ |
| 8. „ viridis | „ „ „ „ „ Paris |
| 9. „ „ | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 10. „ pulegium | „ „ „ „ „ Paris |
| 11. „ aquatica | Yverdon |

Le 7 juillet déjà des taches et même des urédos apparaissent sur quelques plantes.

Le 12 juillet:

No. 1 (M. arvensis) a presque toutes ses feuilles malades, et plusieurs assez fortement. No. 2 par contre n'a rien.

No. 3 (M. alpigena) a des urédos en assez grand nombre.

No. 4 (M. No. 1) a de nombreux amas mais moins avancés que les autres.

Huit jours plus tard le No. 1 est toujours très attaqué, tandis que chez les autres plantes les amas restent petits et fugaces.

Le 5 août le No. 1 est seul encore malade. Les autres plantes n'ont rien eu.

## Essai 19.

Commencé le 6 septembre 1905.

Dans le courant de l'été 1905 mes recherches pour me procurer des urédos sur M.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

arvensis restèrent infructueuses. La station de Montagny s/Yverdon avait été labourée et ce ne fut qu'au commencement de septembre qu'on put découvrir quelques pieds malades près de ce même endroit. Ces urédos me permirent d'infecter les 20 plantes suivantes :

| | Plantes | Provenance |
|---|---|---|
| 1. | Mentha arvensis | Payerne |
| 2. | „ „ | „ |
| 3. | „ „ | „ |
| 4. | „ verticillata | „ |
| 5. | „ aquatica | „ |
| 6. | „ dumetorum | „ |
| 7. | „ longifolia | Corcelles près Payerne |
| 8. | „ „ var. crispa | Graines du jard. bot. de Hambourg |
| 9. | „ alpigena | „ „ „ „ „ Vienne |
| 10. | „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 11. | „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 12. | „ No. 3 | „ „ „ „ „ ? |
| 13. | „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 14. | „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 15. | „ viridis | „ „ „ „ „ Paris |
| 16. | „ „ | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 17. | „ pulegium | „ „ „ „ „ Paris |
| 18. | Satureya montana | „ „ „ „ „ „ |
| 19. | „ hortensis | „ „ „ „ „ divers |
| 20. | Origanum vulgare | ? |

Les Nos. 1, 3, 5, 7, 15, 17, 18, 20 sont placés dans la caisse faisant chambre humide (voir p. 213).

L'essai fait sur porte-objet donne le lendemain déjà une germination abondante.

Les premiers effets de l'infection se montrent au bout de 15 jours, puis des urédos apparaissent, bientôt accompagnés de téleutospores. Le 10 octobre et les jours précédents j'ai observé :

No. 1 (M. arvensis) couvert de téleutospores en amas semblables à ceux que l'on voit dehors.

No. 2 (id.) est en mauvais état; 3 des meilleures feuilles ont néanmoins des téleutospores, mais avec un retard de plusieurs jours sur les autres.

No. 3 (id.) avait des feuilles jaunes et gâtées par les pucerons; les amas sont moins nombreux que sur 1.

No. 19 (Sat. hortensis) a urédos et téleutospores sur quelques feuilles. Celles-ci tombent très facilement, et quelques jours plus tard la plante meurt, sa végétation terminée.

Le 23 octobre, le No. 3 seul avait encore quelques téleutospores.

### Essai 20.

Commencé le 15 septembre 1905.

Le 14 septembre je reçus de M. le prof. Fischer et de M. W. Rytz, cand. phil., une énorme quantité de Mentha arvensis qu'ils avaient eu l'amabilité de cueillir pour mes essais près de Brunnen (Schwytz). Je m'empressai d'utiliser ces plantes surchargées d'urédos et de quelques téleutospores pour tenter un nouvel essai avec les quelque 11 plantes que je pouvais utiliser. La germination se montra complète sur porte-objet, en 3 jours, et néanmoins le résultat de l'essai fut complètement nul. Mentha arvensis var. parietariaefolia et Satureya hortensis moururent mais la M. arvensis resta en parfaite santé. Vues à la loupe, les feuilles ne montrèrent aucune tache caractéristique.

## IV. Essais avec spores provenant de Mentha aquatica L.

### Essai 21.

Commencé le 20 mai 1905.

Téleutospores provenant de Montagny s/Yverdon, et récoltées en octobre 1904, peu avant la destruction de la plante par les gelées.

Les différents essais de germination sur porte-objet ne donnant aucun résultat positif en avril, je remis dehors les sacs qui renfermaient les feuilles malades, et ne les rentrai que vers le 15 mai, après qu'ils eurent subi à nouveau les intempéries atmosphériques. Des tentatives faites pendant l'hiver pour récolter des spores hivernées sur place restèrent infructueuses; les feuilles téleutosporifères étaient introuvables ou vides de spores.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Le 20 mai j'infectai par pulvérisation les plantes suivantes:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha aquatica | Dahlhölzli (Berne) |
| 2. „ arvensis | Payerne |
| 3. „ longifolia | „ |
| 4. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 5. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 6. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 7. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 8. Satureya hortensis | Graines du jard. bot. de Karlsruhe |
| 9. „ montana | „ „ „ „ „ „ |

Sur porte-objet la germination est nulle.

Le 13 juin seulement, soit 24 jours plus tard, les pycnides apparurent; le 24 les aecidies existaient sur les plantes suivantes:

No. 1 (Mentha aquatica); petites aecidies éparses sur les feuilles et urédos plus tard.

No. 4 (M. alpigena); aecidies sur tige et feuilles.

No. 6 (M. No. 4); quelques aecidies sur une feuille et sur une tige.

No. 8 (Satureya hortensis); aecidies et urédos simultanément, et téleutospores à partir du 6 septembre environ. Ces aecidies ne présentaient aucune différence avec les amas d'urédos, si ce n'est une légère teinte plus claire. Le microscope seul permettait de les distinguer. Les pycnides étaient peu apparentes et difficiles à voir sur la surface toute chagrinée des feuilles de Sat. hortensis. Cette plante présente donc le même phénomène que dans l'essai 5; mais ici, il faut admettre que les aecidies et les urédos sont venus en même temps, car le 13 juin il n'y avait que des taches, mais sans spores. Ces aecidies ont été très passagères, tandis que les urédos ont donné une quantité énorme de spores, à tel point que peu de jours après, la plante en était envahie. Sa croissance a subi un retard, et la floraison n'a pas été normale. L'auto-infection a continué ainsi jusqu'à la formation de plusieurs amas de téleutospores en septembre.

Sauf Sat. hortensis toutes les autres plantes étaient encore en pleine végétation à la fin de septembre.

Les téleutospores provenant de M. aquatica ont donc infecté avec succès M. aquatica, puis Satureya hortensis et enfin 2 Menthes voisines de la longifolia.

### Essai 22.

Commencé le 14 juin 1904.

Matériel d'infection consistant en urédos provenant de la même station (Montagny s/Yverdon) que les téleutospores de l'essai précédent. Infecté par pulvérisation:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha aquatica | Selhofenmoos (Berne) |
| 2. „ „ | Wabern près Berne |
| 3. „ arvensis | Berne |
| 4. „ longifolia | Corcelles près Payerne |
| 5. „ „ | Wabern près Berne |
| 6. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 7. „ „ var. crispata | „ „ „ „ |
| 8. „ „ „ „ | Corcelles près Payerne |
| 9. Satureya Clinopodium | Berne |

En chambre humide les urédos germent assez complètement en 3 jours.

No. 1 (Mentha aquatica); taches blanchâtres sur feuilles le 23 juin et le 28 toutes les feuilles sont fortement tachées de brun avec urédos formés. Le 7 juillet, même état.

No. 2 (M. aquatica); une seule feuille avec 3 amas; elle tombe le 7 juillet.

Le 21 juillet, le 5 août et jusqu'à la formation des téleutospores les urédos ont continué à se former sur No. 1.

Rien sur les autres plantes.

### Essai 23.

Commencé le 25 juin 1904.

Matériel d'infection identique et de même provenance que celui de l'essai précédent; très riche en spores il m'a permis d'infecter un plus grand nombre de plantes.

Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha aquatica | Gürbe près Berne |
| 2. „ „ | Dahlhölzli près Berne |
| 3. „ „ | Graines du jard. bot. de Paris |
| 4. „ „ | Selhofenmoos près Berne |
| 5. „ „ | Yverdon |
| 6. „ „ | Wabern près Berne |
| 7. „ piperita var. citrata | Montagny s/Yverdon (jardin) |
| 8. „ longifolia | „ „ „ |
| 9. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 10. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 11. „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 12. „ No. 3 | „ „ „ „ „ „ |
| 13 et 14. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ „ |
| 15. „ piperita var. officin. | „ „ „ „ „ Paris |
| 16. „ viridis | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 17. „ arvensis var. parietariaefolia | „ „ „ „ „ ? |
| 18. „ pulegium | „ „ „ „ „ Paris |
| 19. Satureya montana | „ „ „ „ „ „ |
| 20. „ hortensis | „ „ „ „ „ St. Pétersbourg |

En chambre humide la germination est complète en peu de jours.

Le 7 juillet a lieu le premier contrôle complet de toutes les plantes. Les Nos. 1, 2, 4, 5 et 17 sont fortement atteints avec taches bien visibles à la face supérieure des feuilles et nombreux urédos dessous. Chez les plantes: Nos. 7, 10, 14, 15 et 16 il n'y a que quelques feuilles avec urédos en formation.

Des contrôles faits le 13 et le 21 juillet donnent les résultats suivants:

Nos. 1, 2, 4 et 5 (M. aquatica); bonne réussite sur un grand nombre de feuilles, et propagation de l'infection jusque assez tard avec formation de téleutospores.

No. 3 (M. aquatica) l'infection commence seulement. Amas petits; existent encore le 5 août.

No. 6 (M. aquatica de Wabern près Berne) a si peu de taches que je n'ai pas même pu voir un amas. Ils commençaient à se former puis disparaissaient le lendemain ou le surlendemain.

No. 7 (M. piperita var. citrata) le nombre des amas augmente.

No. 9 (M. alpigena) forte infection, mais rien le 5 août.

No. 10 (M. No. 1) a des urédos sur une seule des plantes du pot et seulement sur quelques feuilles.

No. 12 (M. No. 3) a une infection assez générale, mais le 21 juillet tout avait disparu.

No. 13 et 14 (M. rotundifolia); quelques urédos fugaces sur 13 et existant encore le 5 août sur 14.

No. 15 et 16 (M. piperita et viridis); urédos sur une seule des plantes dans chacun des pots.

No. 17 (M. arvensis var. parietariaefolia) est fortement infectée et cela continue jusqu'à la formation des téleutospores.

No. 20. (Sat. hortensis) n'a des urédos que sur les feuilles de deux branches.

Toutes les plantes provenant de semis étaient encore petites, mais en bonne voie de croissance. Sat. hortensis seul était chétif.

En comparant cet essai avec les précédents, on voit que cette fois les urédos ont infecté avec succès des Menthes très voisines de M. longifolia, une proche parente de l'arvensis, le M. arvensis var. parietariaefolia et une viridis. (Ces quelques urédos vus sur cette plante peuvent, me semble-t-il, provenir d'ailleurs. Les autres viridis, en effet, n'ont jamais rien eu dans les essais avec M. aquatica. Il se pourrait aussi que cette viridis ait été une piperita. L'échantillon n'ayant pas été pressé je ne puis vérifier le fait et le tiens pour douteux.)

Ce résultat paraissant assez singulier, je résolus de refaire un essai analogue en 1905 en m'efforçant d'arriver à la production des téleutospores.

## Essai 24.

Commencé le 3 juin 1905.

Matériel d'infection consistant en urédos de même provenance que les précédents en 1904. Peu de spores disponibles. Les tiges présentaient encore des restes d'aecidies.



Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha aquatica | Payerne |
| 2. „ longifolia var. crispa | Graines du jard. bot. de Hambourg |
| 3. „ No. 2 | „ „ „ „ „ Vienne |
| 4. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 5. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 6. „ pulegium | „ „ „ „ „ Paris |
| 7. Origanum vulgare | Payerne |
| 8. Satureya Clinopodium | „ |
| 9. „ acinos | Graines de ? |
| 10. „ alpina | Suchet (Jura) |

Pas observé de germination en chambre humide sur porte-objet.

Ce ne fut que le 23 juin que de nombreux amas d'urédos apparurent bien formés et assez gros sur No. 1 (M. aquatica). Sur les autres plantes il n'y a absolument rien eu. Satureya acinos est devenu un peu chétif.

## Essai 25.

Commencé le 11 septembre 1905.

Dans l'impossibilité de pouvoir me procurer des urédos sur M. aquatica d'une autre station, car même celles qui avaient quantité de téleutospores en 1904 ne possédaient plus rien en 1905, je dus avoir encore recours à la station de Montagny s/Yverdon. La quantité d'urédos étant très grande j'en profitai pour infecter les plantes disponibles que j'avais encore:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1 et 2. Mentha aquatica | Payerne |
| 3. „ „ | Dahlhölzli près Berne |
| 4. „ piperita var. citrata | Montagny s/Yverdon |
| 5. „ dumetorum | Payerne |
| 6. „ verticillata | „ |
| 7. „ alpigena | Graines du jard. bot. de Vienne |
| 8. „ No. 1 | „ „ „ „ „ „ |
| 9. „ No. 2 | „ „ „ „ „ „ |
| 10. „ No. 4 | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 11. „ rotundifolia | „ „ „ „ „ Vienne |
| 12. „ viridis | „ „ „ „ „ Montpellier |
| 13. „ „ var. crispata | Jardin bot. de Berne |
| 14. „ arvensis var. parietariaefolia | Graines de ? |
| 15. Satureya hortensis | „ „ ? |

Pas de germination observée en chambre humide.

Les Nos. 2, 3, 5, 7, 9, 13 passent les 4 jours dans la caisse (voir p. 213); les autres sont mis sous bocaux pendant 3 jours et souffrent davantage de l'air confiné où ils se trouvent. Vers le 23 septembre le No. 1 a montré 2 taches auréolées de brun.

Le 11 octobre les plantes sont examinées à fond:

Nos. 1, 2 et 3 (M. aquatica) présentent de nombreux amas de téleutospores sur les feuilles formées et des urédos sur toutes les jeunes feuilles. Le 1 est le moins malade. Les amas de téleutospores sont d'abord très petits puis grandissent.

No. 4 (M. piperita var. citrata) a plusieurs feuilles qui se couvrent d'amas d'urédos et de téleutospores qui plus tard dominent. Les uns et les autres restent fortement recouverts par l'épiderme.

No. 5 (M. dumetorum) est atteint un peu partout sauf sur la tige, et plusieurs feuilles sont couvertes de petits amas d'urédos et de téleutospores, non recouverts par l'épiderme. Chaque amas renferme une seule espèce de spores.

No. 6 (M. verticillata) est en très mauvais état. Mis en pot trop tard il ne supporte pas son nouveau mode d'existence. J'ai vu des taches sur une feuille qui flétrissait, mais sans pouvoir conclure.

No. 14 (M. arvensis var. parietariaefolia) a péri (végétation terminée).

No. 15 (Satureya hortensis); même remarque que pour 14.

De nouveaux amas se forment encore plus tard et les autres grandissent.

Dans cet essai le No. 12 (M viridis) a eu sur quelques feuilles des amas de téleutospores qui ont paru avant ceux des autres plantes. Le pot provenait des carreaux où M. viridis était malade (voir p. 396) et les spores n'ont pas présenté les verrues

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nettes comme c'est le cas sur aquatica. Il convient donc d'admettre ici une infection étrangère.

Essai 26.

Cet essai est fait le 13 septembre avec le même matériel que le précédent. Les 3 plantes (voir tableau général) sont placées en caisse (voir p. 213) pendant 3 jours. Le résultat ne fait que confirmer le précédent. La M. aquatica de Wabern près Berne ne donne cependant rien de positif, et corrobore ainsi les résultats des essais 22 et 23.

### V. Essais avec spores provenant de Mentha piperita var. citrata Ehrh.

Essai 27.

Commencé le 2 juillet 1904.

Le 2 juillet je reçus une certaine quantité d'urédos sur une Menthe très jeune qui ne fut déterminée que beaucoup plus tard et qui est absolument identique à la Mentha piperita var. citrata utilisée dans plusieurs essais. Le matériel provenait d'un jardin à Montagny s/Yverdon. Les urédos sont pulvérisés sur:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Mentha longifolia | Corcelles près Payerne |
| 2. „ viridis | Jardin bot. de Berne |
| 3. „ „ | „ „ „ „ |
| 4. „ arvensis | Berne |
| 5. „ „ | Montagny s/Yverdon |
| 6. „ aquatica | Selhofenmoos près Berne |
| 7. „ „ | Wabern près Berne |

Bonne germination en chambre humide.

Le 20 juillet le No. 6 (M. aquatica) seul est atteint et présente des taches nombreuses, suivies bientôt par les urédos. Il aurait sans doute été possible d'avoir des téleutospores, mais l'essai fut interrompu à partir du 5 août.

Une comparaison entre cet essai et ceux dans lesquels M. citrata a été employée prouve que l'on a affaire ici à la même forme que sur M. aquatica.

### VI. Essais avec spores provenant de Satureya Clinopodium Spenn. (Clinopodium vulgare L.)

#### a. Téleutospores.

Le 30 octobre à la Bâtiaz près Martigny (Valais) je pus faire une ample récolte de Clinopodium fortement infectés, à l'endroit où précédemment (25 mai 1904) j'avais cueilli des aecidies. Les plantes étaient parfaitement mûres avec des sommités fructifères en pleine dessication, et portant beaucoup de téleutospores mélangées à d'assez nombreux urédos. Les jeunes pousses, en pleine vigueur, n'avaient que peu d'amas. Des essais de germination tentés a plusieurs reprises vers la fin de l'hiver et au printemps restèrent sans résultat; ce fait m'engagea à exposer de nouveau les sacs aux intempéries jusqu'à la fin de mai, dans la pensée que les alternatives de sécheresse et d'humidité réveilleraient la faculté germinative.

Le 30 mai un essai d'infection fait en pulvérisant un certain nombre de ces spores sur diverses plantes ne donne aucun résultat. Il en est de même pour un essai analogue fait le 24 juin. Les spores possèdent encore leurs papilles; elles n'ont donc pas germé; toutefois il se peut que cette faculté se soit perdue pendant l'hiver précédent qui fut très sec.

#### b. Urédospores.

Essai 28.

Commencé le 21 juillet 1905.

Matériel cueilli le 19 juillet 1905 sur la route de Salvan à Finshauts, aux Marécottes (Valais); les amas peu nombreux se trouvent seulement sur quelques feuilles inférieures de quelques pieds.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Satureya hortensis | Graines du jard. bot. de Marbourg |
| 2. „ Clinopodium | Payerne |
| 3. „ „ | Graines du jard. bot. de St. Pétersbourg |
| 4. „ Calamintha var. silvatica | Baulmes |
| 5. „ „ ssp. Nepeta var. Nepeta | ? |
| 6. „ alpina | Jura |
| 7. Origanum vulgare | Montagny s/Yverdon |
| 8. Mentha longifolia | Payerne |
| 9. „ arvensis | „ |
| 10. „ aquatica | „ |

Le 12 août seulement les Nos. 2 et 3 (Sat. Clinopodium) commencent à présenter des amas sur quelques feuilles, surtout le No. 2; le 3 dépérit. Satur. alpina et M. arvensis meurent le 22 août. Le 15 septembre les amas sur No. 1 ont augmenté de diamètre et à partir de ce moment là il s'en forme rapidement de nouveaux, si bien que le 10 octobre les feuilles voisines en sont garnies et des amas de téleutospores prennent naissance. Les autres plantes sont restées saines et vigoureuses.

### Essai 29.

Commencé le 25 juillet 1905.

Grâce à l'obligeance de M. le Chanoine Besse et de M. Ph. Farquet à Martigny, je reçus de ce dernier tout un ballot de Clinopodium provenant de la touffe qui m'avait fourni les téleutospores l'automne précédent. Il n'y avait plus d'aecidies dans tout le paquet formé de plus de 30 pieds.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Origanum vulgare | Payerne |
| 2. Satureya Clinopodium | „ |
| 3. „ „ | „ |
| 4. „ Calamintha ssp. ascendens | Graines du jard. bot. de Paris |
| 5. „ „ ssp. Nepeta var. Nepeta | „ „ „ „ „ „ |
| 6. „ alpina | Suchet (Jura) |
| 7. „ acinos | Graines du jard. bot. de Stockholm |
| 8. „ hortensis | „ „ „ „ ? |
| 9. „ montana | „ „ „ „ „ Karlsruhe |
| 10. Mentha pulegium | „ „ „ „ „ Paris |
| 11. Nepeta cataria | ? |

Le Sat. Clinopodium No. 2 est très vert; le No. 3 est par contre chétif et jaunâtre. Le 12 août tous deux commencent à avoir des taches, et des urédos le 22, un peu sur toutes les feuilles qui se tachent de brun. Le 10 octobre nombreuses téleutospores. Les autres plantes restent en parfait état, sauf Satureya alpina et acinos qui périssent en septembre.

### Essai 30.

Commencé le 29 juillet 1905.

Les urédos proviennent de la pente E du Chasseron (Jura) à l'altitude d'environ 1300 m. Cueillis le 27 juillet ils servent le 29 à infecter:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Origanum vulgare | Payerne |
| 2. „ „ | Graines du jard. bot. d'Upsala |
| 3. „ creticum | „ „ „ „ de Vienne |
| 4. Satureya Clinopodium | Payerne |
| 5. Sat. Calamintha ssp. silvatica | Baulmes |
| 6. „ „ ssp. Nepeta var. Nepeta | Graines du jard. bot. de Paris |
| 7. „ acinos | „ „ „ „ „ St. Pétersbourg |
| 8. „ „ | De graines du pays |
| 9. Mentha arvensis | Payerne |
| 10. Nepeta menthoides | Graines du jard. bot. de St. Pétersbourg |
| 11. Ballota nigra | ? |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dans cet essai aussi Sat. Clinopodium est seul atteint; le 12 août il a quelques taches, le 24 les urédos sont formés et ils se multiplient jusqu'en automne; le 12 octobre apparition des téleutospores autour des amas d'urédos.

D'après ces essais on voit que le parasite sur Sat. Clinopodium constitue une forme spéciale de la P. Menthae, forme ne paraissant s'attaquer qu'à Sat. Clinopodium, à l'exclusion des autres plantes utilisées.

## VII. Essais avec spores provenant de Satureya Calamintha ssp. silvatica (Bromf). (Calamintha officinalis.)

### a. Téleutospores.

Le 1er août 1904, je pris sur la pente du Suchet, non loin du village de Baulmes, un certain nombre de pieds de ce Satureya malades. Le développement se poursuivit en pots et à la fin d'octobre, je pus récolter un assez grand nombre de feuilles couvertes de téleutospores. Sur porte-objet la germination fut nulle en mars et avril; je fis néanmoins un petit essai le 16 mai avec 2 plantes, mais sans résultat.

Essai 31.

Commencé le 27 mai 1905.

Le 11 mars 1905 je fus assez heureux de pouvoir recueillir à Baulmes comme précédemment quelques bribes de Satureya Calamintha encore téleutosporés. Par pulvérisation les plantes suivantes furent infectées:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Satureya Calamintha ssp. silvatica | Suchet (Jura) |
| 2. „ Clinopodium | Payerne |
| 3. „ „ | Graines du jard. bot. de St. Petersbourg |
| 4. „ Calamintha ssp. Nepeta var. Nepeta | „ „ „ „ „ Paris |
| 5. „ acinos | „ „ „ „ „ Stockholm |
| 6. „ alpina | „ „ Suchet (Jura) |
| 7. Origanum vulgare | Payerne |
| 8. Mentha arvensis | „ |
| 9. „ aquatica | „ |
| 10. „ longifolia | „ |

En chambre humide une seule spore a été vue en germination.

Le 23 juin le No. 1 seul est infecté et même assez complètement malgré la très faible quantité de téleutospores pulvérisées. Tiges et feuilles ont des aecidies naissantes, et même ouvertes depuis 5 jours environ.

No. 5 (Sat. acinos) meurt vers le 23 juin mais non atteint. Les autres plantes restent indemnes.

Pendant tout l'été le No. 1 continue à avoir des urédos en nombre variable et sur les feuilles voisines de l'endroit où se trouvaient les aecidies. Le 2 octobre enfin les téleutospores apparaissent sur les feuilles âgées.

### b. Aecidiospores.

Essai 32.

Commencé le 22 mai 1905.

L'une des plantes cueillie à Baulmes et cultivée en pot pour l'obtention des téleutospores, repousse au printemps, et porte en mai quelques aecidies produites par des téleutospores hivernées sur la terre du pot. Ces aecidies peu nombreuses servent à infecter:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Satureya Calamintha ssp. silvatica | Suchet (Jura) |
| 2. „ Clinopodium | Payerne |
| 3. Origanum vulgare | „ |

Quelques spores seulement germent sur porte-objet.

Le 4 juin, soit au bout de 13 jours, le No. 1 a déjà des urédos en assez grand nombre. Le 23, il y en a encore davantage.

Les autres plantes n'ont rien.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Essai 33.

Commencé le 28 juin 1905.

Les spores sont fournies par le Sat. Calamintha ssp. silvatica de l'essai 31, chargé d'aecidies et de quelques rares amas d'urédos.

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Satureya Clinopodium | Payerne |
| 2. „ Calam. ssp. silvatica | Suchet (Jura) |
| 3. „ „ „ Nepeta var. Nepeta | Graines du jard. bot. de Paris |
| 4. „ „ ssp. ascendens | „ „ „ „ „ „ |
| 5. „ alpina | Suchet (Jura) |
| 6. „ hortensis | ? |
| 7. Origanum vulgare | Payerne |
| 8. Mentha arvensis | „ |
| 9. „ aquatica | Berne (Dahlhölzli) |
| 10. „ longifolia | Payerne |

En chambre humide sur porte-objet la germination est complète en quelques jours.

Le No. 2 (Sat. Calamintha ssp. silvatica) seul donne un résultat positif et porte des urédos à la fin de juillet et en août.

Les autres plantes n'ont absolument rien eu.

**c. Urédospores.**

Essai 34.

Urédos provenant de Baulmes. Après vérification des noms des plantes employées, il s'est trouvé que le Sat. Calamintha ssp. silvatica ne s'y trouvait pas. C'est pourquoi je ne détaille pas cet essai qui n'a d'ailleurs fourni aucun résultat positif (voir tableau résumé).

Comme pour Satureya Clinopodium on voit donc que Sat. Calamintha ssp. silvatica nourrit une forme de P. Menthae qui est biologiquement différente des autres.

## VIII. Essais avec spores provenant de Satureya Calamintha ssp. Nepeta var. Nepetoides (Jord.) Briq. (Calamintha nepetoides Jord.)

Essai 35.

Commencé le 5 juillet 1904.

Non loin de Ringgenberg, sur le Lac de Brienz, M. le prof. L. Fischer trouva du Satureya Calamintha var. Nepetoides urédosporé et eut l'amabilité de m'en envoyer une assez grande quantité. Un nouvel envoi fait en automne me mit en possession de téleutospores.

L'essai fait avec les téleutospores (germination nulle en chambre humide) ne donne aucun résultat. L'essai 35 par contre aurait pu donner un résultat positif, car sur porte-objet la germination était complète en 2 jours. Il manquait malheureusement la plante hôtesse dans la série des pots employés. Les autres, même les Satureya très voisins de la var. Nepetoides n'ont absolument rien eu. En se basant donc sur la réussite des autres essais faits en 1904, il semble possible d'affirmer qu'ici encore on est en présence d'une forme bien spécialisée.

## IX. Essais avec spores provenant de Satureya acinos L. et alpina L.

Satureya acinos et alpina étant deux espèces très voisines, il est permis de supposer qu'elles sont plantes hôtesses de la même forme de P. Menthae. Toutes supportent difficilement l'existence en serre, surtout la première quand elle est en fleurs. Les essais d'infection sont ainsi rendus très difficiles. Pendant les deux étés je n'ai eu à ma disposition que des urédos.

**a. Urédos provenant de Satureya acinos.**

Essais 36 et 37.

L'essai 36, commencé le 27 mai 1904 et fait avec des spores provenant du Valais (Martigny et Sion), ne donne rien; les Sat. acinos et alpina meurent au bout de quelques jours et les autres plantes restent saines (voir tableau résumé).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

L'essai 37, commencé le 14 juin 1904, est fait avec du matériel procuré par M. le Dr. Wurth et provient de Weyermannshaus près de Berne. Huit plantes sont pulvérisées (voir tableau résumé), mais encore sans résultat. Un seul Satureya acinos a eu un amas sur une feuille mourante et cela au bout de 7 jours seulement; il venait de Martigny et il se peut très bien qu'il ait été déjà infecté sur place. Un autre essai fait avec une série de Sat. alpina et acinos manque aussi, car toutes les plantes meurent avant la fin de la période d'incubation.

Le 4 octobre 1904, lors d'une visite faite aux stations de Martigny et de Sion pour trouver des téleutospores, je n'ai pu récolter que des Sat. acinos secs, mi-secs ou encore verts avec de rares amas d'urédos seulement.

### b. Urédos sur Satureya alpina.

Essai 38.

Commencé le 2 septembre 1905.

Le 1er août 1904 je découvris près du sommet du Suchet (Jura) une certaine quantité de Sat. alpina très urédosporés. Mises en pots, ces plantes achevèrent leur période végétative, mais sans former de téleutospores; au printemps elles repoussèrent parfaitement saines. L'année suivante je repris au même endroit une certaine quantité d'urédos et les pulvérisais sur:

| Plantes | Provenance |
|---|---|
| 1. Satureya alpina | Suchet |
| 2. „ „ | „ |
| 3. „ „ | „ |
| 4. et 5. „ acinos (exempl. jeunes) | Payerne |
| 6. „ „ | Graines du jard. bot. de Montpellier |
| 7. „ „ | Graines récoltées en 1904 |
| 8. „ Calamintha ssp. silvatica | Suchet |
| 9. „ „ ssp. ascendens | Graines du jard. bot. de Paris |
| 10. et 11. „ „ ssp. Nepeta var. Nepeta | „ „ „ „ „ „ |
| 12. et 13. „ Clinopodium | Payerne |
| 14. et 15. Origanum vulgare | „ |
| 16. Mentha longifolia | „ |
| 17. Satureya hortensis | Semis |

Les Nos. 3, 5, 6, 11, 13, 14, 16 sont placés dans la caisse, les autres sous bocaux. Sur porte-objet la germination est complète le lendemain matin.

Vers le 15 septembre plusieurs feuilles de Satureya acinos et alpina ont des taches blanches au milieu desquelles on voit bientôt poindre les urédos qui atteignent rapidement une assez grande largeur.

Le 21 septembre le résultat obtenu est le suivant:

Nos. 1 et 2 (Sat. alpina) sont morts.

No. 3 (id.) a quelques urédos sur feuilles mourantes.

Nos. 4, 5 et 6 (Sat. acinos) ont des amas sur plusieurs feuilles. Les uns sont avancés, d'autres seulement naissants.

Les autres plantes sont saines.

Enfin le 26 octobre on voit surgir des amas assez semblables aux urédos, mais plus petits et de couleur plus foncée. Ce sont des téleutospores dont l'apparition lente se poursuit jusqu'en novembre, malgré les fortes gelées d'octobre.

Des pieds de Sat. alpina malades, mis en pots comme l'année précédente continuent à avoir des urédos, dont le nombre diminue à mesure que l'automne devient plus rigoureux. Les pieds ne présentent aucune téleutospore. Ces pots sont pourtant en serre dans les mêmes conditions que les Sat. acinos de l'essai.

Quoiqu'il ne soit pas démontré (essais 36 et 37) que les spores provenant de Sat. acinos puissent infecter Sat. alpina le résultat de l'essai 38 montre bien que ces 2 plantes sont habitées par une même forme biologiquement distincte des autres. En outre elle me paraît différer encore par la difficulté qu'elle a de former des téleutospores. Pendant 2 années de suite il m'a en effet été impossible d'en obtenir sur Sat. alpina, et il a fallu le passage de l'urédinée sur une plante annuelle (Sat. acinos) pour en voir naître quelques taches seulement, malgré la forte quantité d'urédos qui les avait précédées.

Generated on 2019-09-21 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

### B. Résumé comparatif des essais.

Une première constatation à faire en examinant les résultats obtenus est que Pucc. Menthae Pers. présente les formes biologiques suivantes qui sont restées dans tous les essais assez nettement séparées:

1° Forme de la Mentha longifolia
2° „ „ „ „ viridis
3° „ „ „ „ arvensis
4° „ „ „ „ aquatica
5° „ „ „ Satureya Clinopodium
6° „ „ „ „ Calamintha ssp. silvatica
7° „ „ „ „ „ ssp. Nepeta var. Nepetoides
8° „ „ „ „ acinos et alpina

Reprenons ces diverses formes en examinant l'ensemble des essais relatifs à chacune d'elles et résumés dans les tableaux généraux (No. 14/16 d. Centralbl.).

#### 1. F. sp. sur Mentha longifolia.

Les divers matériaux employés atteignent également les M. longifolia en expériences, ainsi que les M. No. 1 à 4 des jardins botaniques étrangers (voir p. 215). M. rotundifolia est aussi atteint, mais avec moins de vigueur, et les amas d'urédos y sont plus fugaces, laissant simplement une tache brune. M. viridis a présenté un phénomène assez singulier; les aecidies et les premières générations d'urédos ont seules pu produire une infection un peu abondante. Avec les téleutospores il n'a été possible d'obtenir d'aecidies que sur l'une d'elles (semis de Montpellier), et encore en très faible quantité. Faut-il admettre que M. viridis est plante hôtesse de la forme de la M. longifolia? Cela paraît peu probable, quand on considère les essais 12 et 13 où M. longifolia est devenue seule malade.

L'hybride M. dumetorum n'a pu être employé que dans les essais 12 et 13 où il n'a rien eu, malgré sa ressemblance avec M. longifolia.

M. piperita (var. officinalis et citrata), M. aquatica et arvensis indigène n'ont rien eu. M. arvensis var. parietariaefolia par contre prend la maladie avec une facilité surprenante et la conserve (essai 4) jusqu'à la formation des téleutospores. Satureya hortensis fait de même, sauf pour ce qui concerne les téleutospores que je n'ai pu obtenir.

Réciproquement: M. longifolia n'a été atteint par aucune des autres formes utilisées. (Il faudrait cependant faire exception pour ce qui concerne la forme sur M. viridis, d'après l'essai 14.)

#### 2. F. sp. sur Mentha viridis.

Il n'y a malheureusement eu qu'un essai, le No. 14, mais comme les plantes qui formaient le foyer d'infection et les autres viridis étaient très malades, les résultats obtenus peuvent, semble-t-il, permettre de conclure que sur M. viridis vit une forme qui diffère biologiquement peu de celle sur M. longifolia et davantage de celles sur les autres Menthes.

Réciproquement: M. viridis peut être, partiellement du moins, plante hôtesse de la forme sur M. longifolia, mais pas des autres.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### 3. F. sp. sur Mentha arvensis.

La même station a fourni les divers matériaux utilisés avec succès. L'infection a réussi sur toutes les M. arvensis utilisées, mais pas sur M. longifolia, viridis et aquatica. Trois spicatae M. Nos. 1 et 3 et M. alpigena (je ne puis affirmer l'exactitude de cette dernière comme il a été dit à la p. 215) puis la M. rotundifolia, ont pourtant eu des aecidies et des urédos. Ces mêmes plantes employées à nouveau dans l'essai 19, sont restées indemnes et paraissent prouver ainsi qu'elles ne seraient pas à même de perpétuer le parasite d'une année à l'autre.

Satureya hortensis est encore hôte complet, mais il semble pourtant que la formation des téleutospores y est plus difficile que pour les autres formes.

Réciproquement: M. arvensis n'a été infectée positivement par aucune autre forme que la sienne.

### 4. F. sp. sur Mentha aquatica.

Il n'a pas été possible pour les raisons déjà indiquées d'utiliser d'autres matériaux d'infection que ceux provenant de Montagny sur Yverdon. Par contre les diverses M. aquatica ont présenté une réussite sensiblement égale, sauf celle cueillie près de Wabern (Berne) (voir p. 216) qui s'est montrée assez réfractaire et cela pendant les deux années.

M. rotundifolia, alpigena (même remarque qu'aux p. 215 et 409), M. No. 1 et 4 et 1 viridis? (voir la remarque p. 401) ont présenté des résultats positifs, mais sans qu'il ait été possible d'obtenir des téleutospores. Il n'en a pas été de même avec les deux hybrides, M. piperita var. citrata et M. dumetorum, qui ont présenté une réceptivité positive pour cette forme et nulle pour celle des autres parents M. viridis et longifolia. L'autre piperita, var. officinalis (viridis $>\times$ aquatica) n'a eu que des urédos.

M. arvensis var. parietariaefolia et Satureya hortensis présentent à nouveau le même phénomène qu'avec la forme sur longifolia; infection abondante et continuant jusqu'à la formation des téleutospores. Il a paru que Satureya convenait encore mieux à cette forme qu'aux autres, car l'infection est restée abondante et les feuilles ne sont tombées qu'au moment de la maturité de la plante.

M. longifolia et arvensis n'ont rien eu.

Comme il a été dit, Mentha piperita var. citrata, héberge aussi la forme de M. aquatica (essai 27).

Réciproquement: aucune autre forme n'a infecté positivement M. aquatica que celle de cette plante elle-même.

### 5. F. sp. sur Satureya Clinopodium.

Les matériaux d'infection de diverses provenances infectent également les Clinopodium utilisés et aucune des autres plantes.

Réciproquement: Sat. Clinopodium n'est infecté par aucune des autres formes.

### 6. F. sp. sur Satureya Calamintha ssp. silvatica (Calamintha officinalis Mönch).

Mêmes remarques que pour Sat. Clinopodium. Il manque cependant ici des essais avec spores de Mentha viridis, arvensis et

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**aquatica.** Cette forme est très spécialisée, car elle ne passe pas même sur les ssp. **ascendens** et **Nepeta** quoique très voisines de la ssp. **silvatica.**

### 7. F. sp. sur Satureya Calamintha ssp. Nepeta var. Nepetoides.

L'insuccès dans les essais avec les urédos et les téleutospores de ce **Satureya** et le manque de plantes types empèchent d'affirmer sûrement que cette forme est réellement distincte des autres.

### 8. F. sp. sur Satureya acinos et alpina.

Malgré la mort de plusieurs des plantes employées il ressort de l'examen des essais que, ici aussi, l'on a affaire à une forme particulière (voir p. 407).

#### C. Conclusions tirées de l'observation directe dans la nature.

Aux conclusions qui découlent des essais, il convient d'ajouter celles que l'on peut faire quand on trouve dans la nature un certain nombre de plantes voisines dont l'une d'elles est infectée.

Ainsi **Mentha longifolia** est fréquemment en compagnie de M. **aquatica**, et, en général, il n'y en a qu'une de malade, ou, quand ce n'est pas le cas, il est aisé de retrouver les deux foyers d'infection. La station de Montagny sur Yverdon présente un cas semblable; le fossé est plein de menthes des deux espèces; à l'une des extrémités l'**aquatica** est seule malade et 20 m. environ plus loin elle n'a plus rien, pendant que la **longifolia** a tous ses pieds atteints.

De même près de Payerne, M. **longifolia**, **aquatica** et **arvensis** se coudoient et la première seule était malade (fournissant le mat. pour les essais 9 et 12).

Non loin des touffes de M. **longifolia** malades se trouvaient M. **dumetorum** et **aquatica** saines.

Dans plusieurs endroits: Payerne, Granges-Marnand, Montagny sur Yverdon, M. **aquatica** malade voisine avec des **Satureya Calamintha** ssp. **silvatica** (Marnand), des **Sat. Clinopodium**, **Origanum**, **Mentha arvensis**, autant de plantes restant saines.

La rouille de **Sat. Clinopodium** ne passe pas non plus sur **Origanum vulgare** qui vit dans les mêmes endroits (Chasseron, Salvan, Martigny et Branson, etc.) ni sur **Sat. alpina** (Les Morteys, Alpes Fribourg., où les deux plantes étaient entremêlées et la première seule malade).

Ces cas, qui ont pu être observés avec soin, vérifient parfaitement les résultats des essais.

Quelquefois il arrive que deux des plantes citées plus haut sont voisines et toutes deux malades, comme les **Sat. Clinopodium** et **Calamintha** sur certaines parties du Suchet (Jura). Les essais seuls permettent alors de trancher la question.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Chapitre 2.

## Etude morphologique et essai de systématique.

Du premier chapitre il découle que P. Menthae Pers. est au point de vue biologique une espèce collective formée par les 8 formes étudiées. Il reste maintenant à examiner si les différences morphologiques indiquées par MM. Sydow et Ed. Fischer (voir p. 214) correspondent aux différences biologiques. C'est à cette étude que je me suis attaché pendant l'automne 1905, et le résultat de l'examen des échantillons recueillis, ainsi que de ceux qui provenaient des essais, montre d'une façon évidente que cette structure est assez constante; cependant, il y a une analogie telle entre ces formes, et leur parenté est si évidente, qu'il m'a paru utile de conserver l'espèce de Persoon, si nette, et de la diviser simplement en Formae speciales, tout en tenant compte des caractères biologiques et morphologiques.

Les caractères de l'espèce collective s'appliquant naturellement aux formes, je me bornerai simplement à donner ceux qui ont été constatés et qui paraissent être distinctifs.

Les aecidies n'ont montré aucune différence partout où elles ont été observées.

Dans les urédos, l'épaisseur de la membrane, la distance des verrues sont les mêmes partout, et varient plus dans une même forme que dans des formes différentes. Les dimensions totales présentent par contre des différences.

Les téleutospores, chauffées dans l'acide lactique, jusqu'à apparition de bulles étaient observées et mesurées le lendemain seulement. Leurs dimensions (100 à 200 spores mesurées dans chaque cas) restent fixes sauf peut-être pour M. aquatica où les spores sont de 1 $\mu$ plus grosses dans chaque sens. L'aspect de ces téleutospores, identique d'ailleurs à celui de spores fraîchement mises dans l'acide lactique, est décrit plus loin.

Il faut ajouter encore que les caractères tirés des téleutospores se sont vérifiés sur des spores obtenues artificiellement.

### 1. F. sp. sur Mentha longifolia.

Urédos sensiblement arrondis, mesurant 17—23 : 17—27 $\mu$; le maximum du nombre des spores est atteint pour 20 $\mu$ de large et 22 $\mu$ de long, ce qui donne une différence de 2 $\mu$ (mesuré 103 spores de divers endroits).

Téleutospores à verrues peu distinctes (dans ac. lact.) et de couleur assez foncée. Leurs amas se trouvent sur feuilles et tiges.

### 2. F. sp. sur Mentha viridis (une seule provenance).

Urédos identiques à ceux de M. longifolia.

Téleutospores à verrues distinctes dans une préparation fraîche seulement. Spores foncées à claires.

(A suivre.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Impression directe sur le papier photographique des objets pour remplacer les dessins à la main. Verre bactériologique correspondant.

Par **Michel Yégounow.**

Avec 4 figures.

Ces derniers temps, depuis que certaines branches de biologie commencent à être absorbées par la mathématique et que les mésures doivent être faites avec la précision presque astronomique, l'observation se complique extrêmement. Il est très souvent impossible de prendre les mesures nécessaires et les notes pendant l'observation même; il arrive souvent qu'il faut renvoyer beaucoup de mesures à plus tard, ce qui n'est possible qu'en recourant à la photographie. Malheureusement, elle n'est encore que très peu adoptée ou partiellement aux buts biologiques, et par conséquent, elle est compliquée et rarement utilisable. Voilà pourquoi chaque indication des méthodes facilitant des recherches et augmentant la précision est très utile.

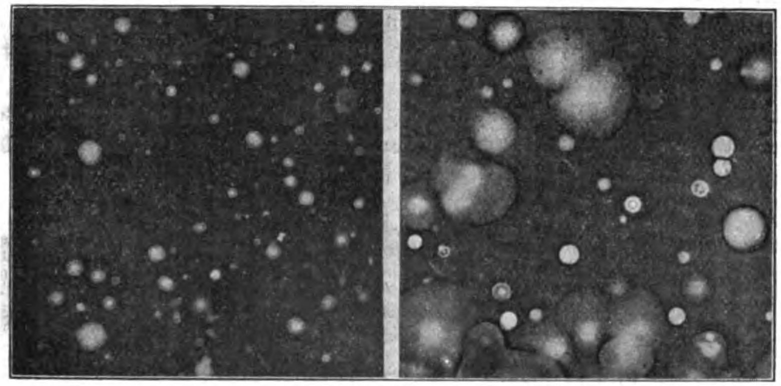
Je décris la méthode que j'avais utilisée en 1904 en étudiant les lois de la croissance des colonies des champignons et des bactéries, méthode qui simplifie et facilite de beaucoup l'application de la photographie, qui est en même temps très précise et peut avoir une grande application théorique et pratique. Cette méthode n'exige l'emploie ni des objectifs, ni des chambres noires; il ne reste du procédé photographique que cette partie qui s'appelle l'impression des positifs par contact; l'objet même sert de négatif, par conséquent l'image reçue n'est qu'une ombre.

Je profitai d'excellentes propriétés du papier Velox (papier à développement) que je recommande beaucoup aux rechercheurs [1]. Ce papier, ainsi que, pour certains cas, d'autres papiers moins sensibles comme par exemple collodionés ou aristotypes permettent de remplacer la photographie chère et compliquée par des manipulations extrêmement rapides et bon marché. Le papier Velox peut être employé dans beaucoup de cas: par exemple: 1) pour imprimer les cultures dans les boîtes de Petri; 2) pour obtenir les contours des petits objets; 3) pour obtenir des épreuves des préparations microscopiques (par exemple des coupes histologiques) directement dans les châssis-presse. Il faut noter ici que plus la source lumineuse est éloignée et plus elle se rapproche par ses dimensions d'un point lumineux, plus les épreuves sont nettes; si toutes les conditions nécessaires sont rigoureusement accomplies, les épreuves sont si nettes qu'on peut les examiner non seulement à la loupe, mais même à l'aide du microscope avec un faible grossissement. Si l'objet permet la pose prolongée et supporte la lumière solaire il vaut mieux se servir de papiers ordinaires sans développement (collodionés ou aristotypes) à condition que l'objet et la source lumineuse soient immobiles. Par conséquent, l'exposition à la lumière solaire doit être courte puisque le déplacement du soleil même pendant un quart d'heure nuit déjà à la netteté des détails dans l'épreuve. En général je

1) Aujourd'hui d'autres maisons (Lumière etc.) préparent aussi le papier pareil (Radios etc.).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ne laisse pas l'exposition au soleil plus de 5 minutes. L'impression des objets minces et plats, tels que des préparations histologiques, des ailes d'insectes, des feuilles, se fait dans les châssis-presse, mieux au soleil; les préparations histologiques doivent être appliquées au papier avec leurs lamelles. Pour avoir les épreuves des objets plats, mais épais (par exemple boîtes de Petri) il faut les mettre entre une planchette couverte d'étoffe noire et une glace (fig. 1). Quant aux boîtes de Petri, il faut remarquer que si l'on veut avoir les épreuves nettes et justes il faut choisir les boîtes avec le fond plat et très bien poli (il faut les examiner à la lumière). Si les objets sont sphériques ou d'une forme quelconque irrégulière, ils doivent être pendus près du papier sensible (à 1—0,5 mm. du papier) qui est fixé à une planchette plate et placée verticalement. Dans ce cas, la source lumineuse doit être très éloignée et par conséquent, la pose assez prolongée.



a b

Fig. 1. Culture sur agar (a) et sur gélatine (b) (de poussière de foin).

En un mot; puisque les images obtenues sont les images des ombres il faut que toutes les conditions nécessaires pour obtenir des ombres à contours nets soient accomplies.

Les images obtenues à ces conditions sont exactement égales aux objets et les mesures avec la précision de 0,02 mm. ne montrent aucune différence entre elles. C'est pourquoi je remplaçais souvent les mesures des colonies des bactéries et des champignons par celles de leurs images. Les épreuves insuffisantes et même tout à fait impropres pour les mesures sont données par les colonies des organismes qui liquéfient ou ramollissent la gélatine bien endehors de leurs limites ou encore par les colonies de petite taille, transparentes, réfractant fortement la lumière, parce que fonctionnant comme des lentilles à distance focale très faible, elles donnent les images diffuses, parfois à peine visibles. En général, je ne puis recommander de s'en rapporter à l'égalité des dimensions de l'objet et de son image si la colonie est plus petite que 0,2 mm. Il vaudrait même mieux prendre une limite plus élevée, par exemple 0,4—0,5 mm. et ne jamais mesurer les colonies plus petites d'après leurs images. Je suppose que la couche de gélatine dans les boîtes de Petri est égale à 1 mm. (maximum 1,5 mm.). D'ailleurs, dans chaque cas particulier, il faut prendre en

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

considération l'épaisseur de la couche du milieu nutritif, la netteté des contours des images, ses bords, etc. Les colonies des champignons donnent d'excellentes images très exactes, où l'on peut même distinguer à l'œil nu où à la loupe des hyphes séparées et trouver des colonies très jeunes (pas plus âgées que d'un jour) composées de quelques hyphes qui viennent d'être poussées (fig. 1a).

Dans certains cas les mesures d'après les images deviennent absolument nécessaires. Ainsi par exemple, dans les cas où la colonie a une forme irrégulière ou encore plus, quand la forme ne devient irrégulière qu'après quelque temps. Dans ce dernier cas, si l'on fait les mesures au microscope d'après la colonie elle-même, souvent on se voit obligé à laisser les mesures commencées parce qu'on constate que les directions ont été mal choisies. Tandis que les mesures d'après les images permettent de déterminer (d'après les dernières épreuves) les meilleures directions qui répondent exactement aux exigeances de l'observateur; et ce n'est pas tout, il est évident qu'une série successive d'images fixes donne une représentation exacte et précise du caractère de la croissance dans chacun des points de la colonie et dans toutes les directions.

Ainsi, ayant une série successive d'images, on peut découper la colonie voulue et reconstituer la marche de sa croissance comme on le voit dans la fig. 2.

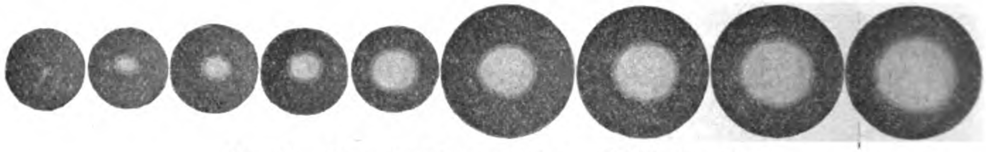


Fig. 2. Bac. typhi murium Löffl. (agar).

La fig. 3 montre tous les détails des rapports entre les organismes: entre l'un des genres de Mucor qui croît du centre et de différentes espèces de moisissures. On voit que quelques-uns de ces derniers n'empêchent pas la croissance de Mucor et que les hyphes de celui-ci en se courbant embrassent plus ou moins étroitement les colonies des moisissures; d'autres retiennent la croissance dans différents dégrés et rejettent arrière elles en quelque sorte des ombres biologiques, c'est-à-dire elles laissent des endroits dépourvus de végétation. D'après le dégré des courbures des hyphes, d'après la vitesse et le mode de croissance à l'arrière des colonies, d'après l'amincissement des hyphes et la richesse de leurs ramifications, on peut juger même du côté quantitatif des phénomènes. Aucun dessin ne pourraît donner tous ces détails.

Dans certains cas, les images des ombres peuvent servir pour distinguer les espèces des bactéries permettant la méthode optique de la détermination. Les collections des images des ombres peuvent servir aux cours, dans les musées de bactériologie pour la demonstration des propriétés physiques des colonies (les caractères de leurs bords, de leur rapport à la lumière: réfraction, transparence, couleur etc.) et des propriétés biologiques (le caractère de la croissance, les rapports mutuels des colonies des différents organismes etc.).

En terminant je veux faire quelques objections pratiques. Ayant affaire avec les objets très délicats, il faut employer Velox „Regular

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Carbon" qui augmente de beaucoup la vigueur et les contrastes; pour obtenir les plus petits détails — „Special Portrait". Le révélateur avec $H_3PO_4$ donne de jolies épreuves à reflet velouté. L'impression doit toujours être faite aux mêmes conditions[1]) et à la lumière artificielle (bec Auer ou magnésium); l'eclairage ne peut aucunément nuire aux orga-

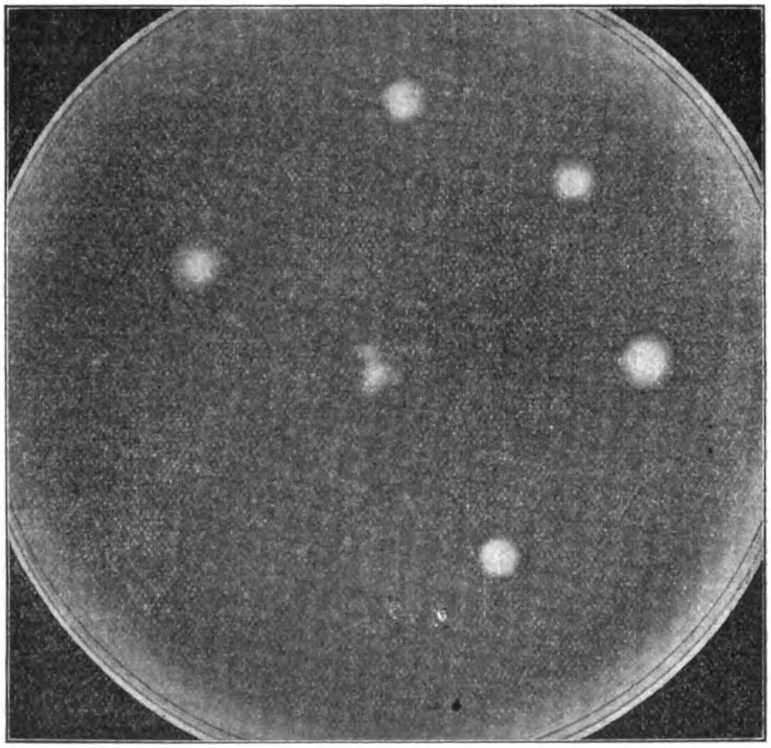


Fig. 3. Culture sur agar.

nismes puisque le temps de la pose est très court (quelques secondes). Les épreuves 1) doivent être sechées sur papier à filtrer ou sur étoffe quelconque (en laine ou en coton), mais jamais sur verre ou sur plaques émaillées, parce que en ce cas le papier s'étire inégalement dans différentes directions; après mes mesures l'étirement atteint jusqu'aux $1^1/_2$ à $3^1/_2$ % de sa longeur ce qui peut altérer complètement par exemple les courbes des croissances; 2) ils doivent être coller à sec (avec des feuilles de gouttapercha).

Pour obtenir les images précises le verre couramment employé dans la bactériologie ne convient pas. Il est nécessaire d'avoir le verre spécial ayant une ou 2 parois parfaitement plates et uniformément épaisses. Je propose les objets suivants:

1° Eprouvettes (fig. 4) pour les cultures à piqûre, pour les colonies profondes; pour les anaérobies. Longueur 15 cm.; diamètre

1) Le châssis-presse est appliqué à la règle fixée à un bord de la table sur l'autre bord de laquelle on met l'écran avec un orifice à travers lequel passe la lumière. La disposition est la même dans la direction verticale (par exemple pour les organismes liquéfiant la gélatine).

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15 à 16 mm.; largeur inter. de 2 à 8 mm (a); l'eprouvette b pour les cultures à strie et pour les colonies superficielles; le diamètre 15 à 25 mm.; la largeur interne 8 à 15 mm.

2⁰ Ballons en verre mince à 0,5—1 mm. Ballon rond du diamètre de 8 cm.; ballon rectangulaire 6 × 10 cm. La largeur inter. c est comme pour les éprouvettes a et b depuis 2 à 12 mm. et jusqu'aux 25 mm.

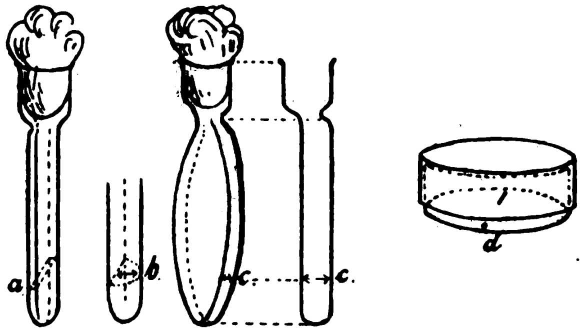


Fig. 4.

3⁰ Boîte pour les mensurations très précises et pour certaines cultures spéciales dont je parlerai dans un article spécial. Le fond est en glace de 0,5 à 0,8 mm. d'épaisseur; il a sur ses bords une ligne et un point servant de repères pour l'orientation (fig. 4 d); le diamètre 6 à 8 cm. etc.; la hauteur $1^1/_2$ cm. pour les colonies superficielles et 30 à 50 mm. etc. pour les profondes. Dans les dernières les mensurations doivent être faites directement non seulement pour la précision mais encore parce que la gélatine retient fortement les rayons actifs dans les couches épaisses.

Pour l'impression on peut employer le châssis-presse ordinaire en y adoptant les barres.

Puisque la méthode décrite est l'application de la partie la plus précise de la photographie elle ne laisse rien de mieux à désirer ni pour ce qui concerne la précision, ni pour la simplicité et la vitesse.

Genève, 9 juillet 1906.

## Inhalt.

**Christensen, Harald R.**, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. (Schluß), p. 378.

**Gruchet, Paul**, Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées. (Suite), p. 395.

**Fuhrmann, Franz**, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres, p. 356.

**Harrison, F. C.**, A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus. (Conclusion), p. 384.

**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen. (Schluß), p. 345.

**Hutchinson, H. B.**, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Forts.), p. 321.

**van der Leck, J.**, Aromabildende Bakterien in Milch, p. 366.

**Nabokich, A. J.** und **Lebedeff. A. F.**, Ueber die Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien, p. 350.

**Rodella, Antonio**, Ueber zwei Milchanaëroben der Buttersäuregruppe, welche in der Milch keine Buttersäuregärung hervorrufen, p. 374.

**Teichert, Kurt**, Ueber eine als Żur bezeichnete Mehlteiggärung, p. 376.

**Uyeda, Y.**, Eine Bakterienkrankheit von Zingiber officinale, p. 383.

**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Forts.), p. 331.

**Yégounow, Michel**, Impression directe sur le papier photographique des objets pour remplacer les dessins à la main. Verre bactériologique correspondant, p. 412.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 14/16.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

Mit 7 Textfiguren und 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Daher kann ich die Behauptung von Klebs (17), daß das Licht keinen Einfluß auf das Wachstum von Eurotium und Penicillium habe, nicht für richtig halten. Fig. 7 (Penicillium glaucum-Kultur auf Fleischwasserpeptonagar) zeigt deutlich die Zonenbildung. An Kulturen verschiedener Schimmelpilze auf Agar konnte ich feststellen, daß die hauptsächlich aus Konidienträgern bestehenden Ringe unter dem Einfluß des Lichtes gebildet werden.

An Gelatinekulturen traten die Ringe weniger scharf hervor und lassen sich manchmal gar nicht erkennen: Abbildungen von Schimmelpilzen mit deutlicher Zonenbildung findet man vielfach in der Literatur, so z. B. in der Arbeit von Milburn (18) über Hypocrea, auch in der Arbeit von Oudeman et Koning (19) über Penicillium geophilum und Cephalospora humicola, ferner im Atlas zu Kolle-Wassermann, Handbuch. Taf. VII. In einigen Versuchen Milburns, bei denen eine Verflüssigung des Substrates eingetreten war, ließ sich Ringbildung nicht erkennen, wahrscheinlich deswegen, weil sie durch Verschiebung der einzelnen Mycelfäden verwischt worden war. Man kann jedoch gelegentlich selbst auf Kulturflüssigkeiten, die vor jeder Erschütterung bewahrt worden sind, die einzelnen Tagesringe deutlich erkennen.

Aus den Beobachtungen Milburns und aus meinen eigenen Wahrnehmungen geht hervor, daß sich mit den Kulturbedingungen auch die Empfindlichkeit der Organismen gegen Licht ändert. Milburn hat bei seinen Untersuchungen diesen Umständen ohne Zweifel zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Wenn er z. B. behauptet, allein der Sauerstoff der Luft sei bei der Konidienbildung von ausschlaggebender Bedeutung, so bleibt noch unerklärt, woher die starken Schwankungen im Sauerstoffgehalt der Luft bei Tag und Nacht kommen.

Um den Einfluß des Lichtes vollständig auszuschließen, müßte man die Kulturen im Dunkeln wachsen lassen und dürfte sie nur in rotem Licht beobachten; da schon eine ganz kurze Einwirkung von Tageslicht eine deutlich erkennbare Wirkung ausüben kann.

Große Empfindlichkeit gegen Licht zeigen Oidium lactis und ein Dematium-ähnlicher Organismus, der unten beschrieben werden soll.

Fig. 7, Taf. II zeigt eine Kultur von Oidium lactis, die dem abwechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit ausgesetzt, und Fig. 8 eine Kultur, die ganz in schwarzes Papier eingewickelt und nur einmal 2 Minuten lang während der Untersuchung dem Lichte ausgesetzt worden



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

war. Man erkennt deutlich den Ring, der infolge der Belichtung entstand. Noch empfindlicher gegen Licht erwies sich der Dematium-ähnliche Organismus. Schon durch eine nur eine Minute dauernde Belichtung wurde nicht nur eine Farbenänderung, sondern auch eine Aenderung der ganzen Art des Wachstums angebahnt, die aber erst später in Erscheinung trat. 12—24 Stunden nach der Belichtung war sie meistens deutlich sichtbar. Aenderungen in der Art des Wachstums lassen sich sehr gut an Kulturen von Penicillium glaucum beobachten. Während der Nacht wächst ein sehr kräftiges Mycel, das an seinem äußeren Rande ausgefranst ist; am darauffolgenden Tage unter dem Einflusse des Lichtes wächst wenig Mycel, dagegen bilden sich Sporenträger.

Bei derartigen Versuchen ist es äußerst schwierig. die verschiedenen Einflüsse von Licht, Sauerstoff und Temperatur vollständig auseinander zu halten und gesondert zu verfolgen. Bei den obligat aëroben Schimmelpilzen kann, wenn Wachstum eintreten soll, der Zutritt von Luft überhaupt nicht ganz ausgeschlossen werden. Wurden Kulturen solcher Organismen bei ungehindertem Luftzutritt im Dunkeln gehalten, so erfolgte keine Zonenbildung, aber es trat eine starke Mycelbildung ein, und es entwickelten sich nur in der Mitte der Kulturen einige Konidienträger. In dem einen Falle wurde eine Kulturplatte ohne Deckel in der Dunkelkammer frei zur Luft, in dem anderen eine Platte unter eine Glasglocke gestellt. Hier wurde der Sauerstoff mittels Pyrogallol absorbiert. Bei freiem Lichtzutritt, aber im sauerstoffarmen Raum, traten die abwechselnden Zonen von Mycel und Konidienträgern deutlich hervor, und als die Kulturen älter wurden, bedeckte sich die ganze Mitte der Kolonie mit Konidienträgern. Solche, unter ungewöhnlichen Umständen gewachsene Kulturen sehen etwas filziger aus als normale Kulturen, zeigen aber sonst keine Unterschiede. Aus diesen und noch aus vielen anderen Versuchen muß man schließen, daß die niederen Organismen gegen Licht, und zwar besonders in Gegenwart von Sauerstoff, äußerst empfindlich sind.

## C. Die Struktur der Kolonieen.

Im Laufe der vorstehenden Untersuchungen wurde mein Interesse wiederholt auf die Beschaffenheit der Struktur der Kolonieen und auf die Frage der Einwirkung der äußeren Einflüsse darauf hingelenkt. Ich vermutete, daß es möglich sein könnte, Verschiedenheiten nach Form und Wesen an den Zellen der verschiedenen Teile einer Kolonie nachzuweisen.

Ich entschloß mich, der Sache näher zu treten und mich zunächst darüber zu unterrichten, was in dieser Hinsicht etwa erreicht werden könnte. Mit Ausnahme der Arbeiten von Axelrad, Münden, Serkowski und neuerdings von Saul, bietet die bakteriologische Literatur meines Wissens hierüber nichts.

Es wird offenbar als selbstverständlich angenommen, daß die Kulturen aus einer großen Zahl gleichartiger, regellos durcheinander liegender Zellen beständen. An die Möglichkeit, daß Kolonieen eine bestimmte Struktur haben, und daß die Zellen in ihnen von verschiedener Beschaffenheit sein könnten, je nach den in den einzelnen Teilen der Kolonie herrschenden Lebensbedingungen, scheint man gar nicht gedacht zu haben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für Hefekolonieen hat Will gezeigt, daß Zellen aus verschiedenen Teilen der Kolonieen verschiedene morphologische und physiologische Eigenschaften besitzen. Als ich meine Arbeiten in Angriff nahm, waren mir die Untersuchungen Wills noch nicht bekannt, und da ich in ganz anderer Weise arbeitete wie er, war es mir interessant, meine Resultate mit den seinigen zu vergleichen. Wieweit unsere beiderseitigen Untersuchungen übereinstimmen oder in ihren Ergebnissen auseinandergehen, werde ich später in den Kapiteln über Hefekolonieen zeigen.

Bei dem Studium der Kolonieen der niederen Organismen drängt sich zunächst die Frage auf, ob die Kolonieen als Zellstaaten aufzufassen seien, oder ob jede Zelle für sich und unabhängig von allen übrigen vegetiere.

Träfe das erstere zu, so würde es sich, da zahllose Zellen verschiedenen Alters zusammenliegen, vor allem fragen, ob zwischen den Zellen eine gewisse Arbeitsteilung stattfände.

Wenn auch die Verhältnisse bei den Bakterienkolonieen verhältnismäßig einfach sind, gestalten sie sich doch bei den Hefenkolonieen wesentlich verwickelter, bei denen man es mit einem Wechsel der Zellformen in den verschiedenen Teilen der Kolonieen zu tun hat. Ein eingehendes Studium dieser Verhältnisse ist vor allem nötig, wenn man nicht zu falschen Schlüssen kommen will. Neben den Arbeiten von Münden und Serkowski möchte ich, bevor ich meine eigenen Untersuchungen beschreibe, noch die nachstehenden Arbeiten, welche für die Methode der Untersuchung von Bedeutung sind, kurz erwähnen.

Fischl (20) hat schon 1887 eine Methode zur Darstellung von Schnitten aus Stichkulturen ausgearbeitet und bekannt gegeben und Neisser (21) hat diese Arbeitsmethode noch vervollkommnet. Man verfährt nach Neisser wie folgt: die Gelatineröhrchenkulturen werden kurze Seit in warmes Wasser gestellt, damit sich die Gelatine vom Glas loslöst. Die herausgenommenen Gelatinesäulen legt man in eine 1-proz. Kaliumbichromatlösung und setzt sie in dieser Lösung je nach ihrer Größe und Dicke einer 1—8-tägigen Belichtung aus. Nachdem die Stücke die gewünschte Härte gewonnen haben, wässert man sie gründlichst aus und bringt sie zunächst in 70—90-proz. Alkohol, sodann in absoluten Alkohol, schneidet mit dem Mikrotom und färbt die erhaltenen Schnitte nach der Gramschen oder Weigertschen Vorschrift. Da die äußere Rinde der Gelatinesäulen durch das Fixieren zu hart geworden war, muß sie vor dem Schneiden entfernt werden.

Jacobi (22) hat ein Verfahren zur Anfertigung von Schnitten durch Gelatineplattenkulturen mitgeteilt. Die Härtung erfolgte nach der eben erwähnten Neisserschen Methode. Jacobi sagt von seinem Verfahren: „Gegenüber den Klatschpräparaten hat die Methode, ganz abgesehen von ihrer größeren Bequemlichkeit und Sicherheit, noch den einen sehr wesentlichen Vorzug, daß man auch die im Innern der Platten liegenden Kolonieen, sowie das so oft charakteristische Eindringen der Bakterien in die Gelatine beobachten kann, und daß man auch die oberflächlichsten Kolonieen mit ihren feinsten Verzweigungen genau in ihrer Lage erhält“. Mit Agaragar gelang es ihm nicht, befriedigende Ergebnisse zu erhalten. Leider unterläßt er es, in seiner Arbeit die Resultate seiner Versuche zu beschreiben.

Hardy (23) hat bei seinen Untersuchungen über die Struktur des Zellprotoplasmas zur Härtung von Gelatine und Agar Alkohol, Osmiumsäure, Quecksilberchlorid, Formalin u. s. w. benutzt, sagt aber nicht



Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

näher, wie er dabei verfuhr. Von Pick (24) rührt eine Methode her zur Gewinnung von Schnitten von tiefliegenden Kolonieen. Er härtet seine Präparate ähnlich wie Hardy mit Formalin. Leider gelang es mir trotz vieler Mühe nicht, die Publikation Picks zu erlangen, bevor ich daran ging, selbst eine Methode zur Herstellung von Schnitten von Oberflächenkolonieen auszuprobieren.

Die Picksche Methode hat Saul (38) bei seinen Arbeiten über den Bau tiefliegender Kolonieen angewendet. Er hat es aber, wie es scheint, dabei unterlassen, die morphologischen Eigenschaften der einzelnen Zellen näher zu untersuchen. Kellermann (25) härtete Oberflächenkolonieen mit Essigsäure und Alkohol und bettete sie, um Schnitte herstellen zu können, in Paraffin ein. Er beschreibt die erzielten Erfolge nicht. Nach den Erfahrungen, die ich mit diesem Verfahren machte, wird die Masse, in der die Kolonie liegt, äußerst brüchig, löst sich daher leicht vom Nährboden ab und zerfällt beim Versuch, sie zu schneiden, in kleine Stücke.

Da es mir zunächst darauf ankam, die Struktur der ganzen Kolonieen, nicht aber die physiologischen Eigenschaften der einzelnen Zellen zu studieren, so mußte ich ein Verfahren ausfindig zu machen suchen zur Gewinnung von Schnitten, die nicht nur ein Bild der einzelnen Zellen, sondern auch der gesamten Kolonie geben konnten. Ich versuchte es, Schnitte durch Kolonieen herzustellen und kam nach vielen Versuchen zu der folgenden Methode, die sich für meine Zwecke am besten eignete und von der ich nur unter ganz besonderen Umständen im Einzelnen abging.

In der Mehrzahl der Fälle verwendete ich Agarkolonieen, da es mir nicht gelingen wollte, gute Schnitte durch Kolonieen auf Gelatine zu erhalten.

### Fixierung der Kolonieen.

Beim Fixieren der Oberflächenkolonieen verfuhr ich in der Weise, daß ich ca. 10 ccm einer Mischung von geschmolzenem 1,5-proz. Agar und Formalin im Verhältnis von 30:1 bei 50° C über die Kolonieen goß. Im allgemeinen bewährte sich dieses Verfahren sehr gut, nur bei der Behandlung von Kolonieen der Kahmhefen und Schimmelpilze ergaben sich Schwierigkeiten, und zwar deshalb, weil sie in der oberen Schicht Luftblasen bildeten; der Schnitt hing alsdann nicht gut zusammen und das Bild der Struktur wurde infolgedessen zerstört.

Ich versuchte auch, die Kolonieen durch Formalindämpfe und darauf folgendes Bespritzen mit feinverteiltem Alkohol oder Aether zu fixieren, ohne befriedigende Erfolge zu erzielen.

Die Behandlung mit Formalin hatte nicht nur den Zweck, die Kolonieen zu härten, sondern vor allen Dingen auch, sie so schnell wie möglich abzutöten. Geschah dieses nicht, so entstanden stets Gasblasen im Innern oder an der Oberfläche der Kolonieen und zerstörten die Struktur der ganzen Kolonieen.

### Färbung und Durchtränkung.

Nach einigen Stunden wurden die Kolonieen mit der umliegenden Agarschicht aus der Agarplatte herausgeschnitten und kurze Zeit in Farbstofflösung gelegt, gewöhnlich in eine Lösung von Saffranin, das die Kolonie stark färbte. Doppelte Stückfärbung erwies sich nicht als zweckmäßig. Hierauf wurden die Stücke in bekannter Weise der Reihe nach

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

mit verdünntem, mit stärkerem, mit absolutem Alkohol, mit Chloroform behandelt und in Paraffin vom Schmelzpunkt von 54° C eingebettet. In der Regel blieben die Stücke 12 Stunden im geschmolzenen Paraffin bei etwa 56° im Heizschrank stehen und wurden dann herausgenommen und schnell abgekühlt. Die erstarrte Masse wurde mit dem Mikrotom geschnitten. Schnitte, die etwa doppelt so stark waren als der Querdurchmesser der Zellen, also von 3 bis 5 $\mu$ Dicke, erwiesen sich als am besten brauchbar. Die Schnitte wurden auf warmes Wasser gelegt und entweder nochmals gefärbt oder sogleich auf dem Objektträger in mit Xylol verdünntem Kanadabalsam eingeschlossen. So behandelte Präparate bewahren ihre Färbung lange Zeit unverändert und lassen sich unter dem Mikroskop gut untersuchen.

## 1. Struktur der Bakterienkolonieen.

Wenn man das Wachstum einer Bakterienkolonie aus einer einzigen Zelle verfolgt, wie es im ersten Teil dieser Arbeit beschrieben wurde, so sieht man, daß die jungen Kolonien in den ersten Stadien ihrer Ausbildung aus einem Haufen von Zellen, die regellos durcheinander liegen, bestehen. Schon nach kurzer Zeit ändert sich dies und gewinnen die Kolonieen eine mehr oder weniger regelmäßige Gestalt. Können sich die Bakterien auf der Oberfläche des Nährmediums fortbewegen, so entstehen flache Kolonieen, wie man sie so häufig auf frischen Agar-Platten sieht. Fehlt jedoch an der Oberfläche das dazu nötige Wasser, so finden die nach außen strebenden Bakterien Widerstände, durch die ein von der Peripherie gegen das Zentrum der Kolonie, gegen die Impfstelle gerichteter Druck hervorgebracht wird. Die Wirkung dieses Druckes wird teilweise ausgeglichen dadurch, daß in der Mitte wegen Erschöpfung des Substrates an Nährstoffen das Wachstum sich verlangsamt, während in der Nähe der Peripherie infolge von Chemotropismus, hervorgerufen durch den Reichtum an frischen Nährstoffen in der Nähe der Kolonie, die Energie des Wachstums dieselbe bleibt. Dazu kommt noch, daß vielleicht die Zellen eine durch negative Tigmotaxis hervorgerufene Neigung erlangen, in radialer Richtung zu wachsen. Jedenfalls hat man es in jeder Oberflächenkolonie mit zwei Kräften, die in zentripetaler bezw. zentrifugaler Richtung wirken, zu tun.

Bei näherer Untersuchung der Struktur der Kolonieen werden wir Gelegenheit finden, die Folgen der Wirkung dieser Kräfte zu erkennen.

### Kolonieen des Bacillus subtilis.

Die Oberflächenkolonieen von Bac. subtilis haben in der Regel die Form großer, flacher Scheiben von ca. 0,3 mm Dicke. Bei schwächerer

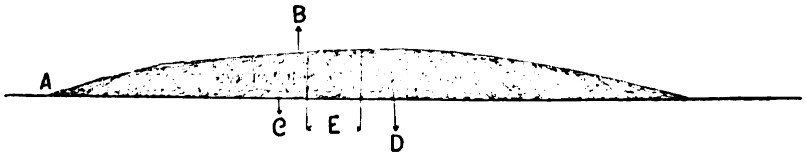



Fig. 6. Schnitt durch eine Kolonie von Bacillus subtilis.

Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Ränder der Kolonieen etwas unregelmäßig. Man sieht an ihnen einzelne Zellen und Fäden. Ein Schnitt durch eine solche Kolonie bietet ein sehr interessantes Bild (s. beistehende Fig. 6 und Fig. 11, Taf. III).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am Rande (*A*) der Kolonie liegen die Zellen meistenteils horizontal und sind radial gerichtet; sie lassen sich leicht färben, scheinen ganz gesund und voll von Protoplasma zu sein und lassen nur in älteren Kolonieen Sporenbildung erkennen. Ihre Größe beträgt ca. $1 \times 4\ \mu$.

In den obersten Schichten (*B*) der Kolonie zeigt die Längsachse der Zellen eine Richtung nach den verschiedensten Seiten, doch sind die Zellen in der Mehrzahl horizontal gelagert. Da diese Zellen älter als die Randzellen sind, färben sie sich nicht so leicht; auch zeigen schon viele Zellen Sporen in ihrem Innern. In den unteren Teilen (*C*) findet man die Zellen sowohl in horizontaler als auch in anderer Lage. Die in der Nähe des äußeren Randes befindlichen Zellen sind etwas kürzer und dicker ($1{,}5 \times 3\ \mu$) als es sonst gesunde Zellen dieser Art zu sein pflegen, je näher die Zellen dem Zentrum liegen, um so kürzer und dicker werden sie, und in der Mitte trifft man Involutionsformen und Zellen, die vermutlich längst abgestorben sind. Die mittlere Schicht (*D*) einer solchen Kolonie besteht hauptsächlich aus Involutionsformen, aus Zellen, deren Größe ca. $2{,}5 \times 2{,}5\ \mu$ beträgt und die in Ketten in senkrechter Lage angeordnet sind.

In der Mitte macht die Dicke dieser Schicht ungefähr $^3/_4$ der Dicke der Kolonie aus; sie unterscheidet sich von den übrigen Teilen der Kolonie in auffallender Weise.

Junge Oberflächenkolonieen bestehen gewöhnlich nur aus einer Zellschicht und erst bei weiterem Wachstum bilden sich durch Uebereinanderschiebung mehrere Zellschichten. Der Druck, den wir oben als zentripetalen Druck bezeichneten, trägt auch dazu bei, daß sich die Zellen in mehreren Schichten übereinander lagern. Die Zellen der obersten und untersten Schicht nehmen unter der Wirkung der Kohäsion der Kolonie, bezw. der Adhäsion am Substrat eine horizontale Lage an, vielleicht auch, weil sie sich in dieser Lage am besten ernähren können: sie bieten dem Diffusionsstrome der Nährstoffe eine möglichst große Oberfläche. Da die Zellen im Innern weniger energisch wachsen als die Zellen der äußeren Partieen der Kolonie, überwiegt für sie der zentripetale Druck den zentrifugalen, sie werden somit zusammengedrückt und erhalten dadurch eine zur Druckrichtung senkrechte Lage, d. h. ihre Längsachse stellt sich mehr oder weniger genau senkrecht, wie es Fig. 1, Taf. I bei Bacillus lactis albus zeigt.

In Kolonieen dieses Organismus findet man häufig (siehe Skizze) eine wellenähnliche Lagerung der Zellen in den Partieen zwischen dem Zentrum und der äußeren Oberfläche und dem Rande.

Ich erkläre mir dies daraus, daß die Lebensenergie der Bakterien, wenn auch Nährstoffe und Sauerstoff ununterbrochen in reichen Mengen vorhanden sind, doch nicht immer gleich lebhaft ist. Sie wird durch den Wechsel der Einflüsse von Licht und Dunkelheit, von höherer oder tieferer Temperatur bald erhöht, bald heruntergestimmt. Hierdurch entstehen abwechselnd größere oder geringere Druckwirkungen und dieser Wechsel ruft weiter die ungleichmäßigen, wellenähnlichen Biegungen [1]) der Zellfäden hervor.

Obgleich die untersten in unmittelbarer Berührung mit dem Nährmedium stehenden Zellen keinen Mangel an festen und flüssigen Nährstoffen leiden, ist doch die Luftzufuhr stark behindert. Hierdurch und

---

1) Ob diese Bildungen die direkte oder indirekte Ursache der Ringbildung an den Kolonieen von Bac. subtilis sind, wenn die Kolonieen abwechselnd im Licht und im Dunkeln wachsen, habe ich noch nicht feststellen können.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die in der Mitte stattfindende Anhäufung von Stoffwechselprodukten, kommen die hier liegenden Zellen allmählich zum Absterben.

In den Kapiteln über Hefekolonieen werde ich auch noch den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf die Zellform besprechen.

Infolge verminderter Zufuhr von Sauerstoff und anderen Nährstoffen befinden sich die Zellen in den mittleren Schichten beinahe unter ebenso ungünstigen Bedingungen wie die der unteren Partieen, woraus sich das Vorkommen der Involutionsformen in diesen Schichten erklärt. In den Zellen der oberen Schicht, denen genug Sauerstoff, aber sehr wenig an sonstigen Nährstoffen zur Verfügung steht, tritt besonders reichliche Sporenbildung auf.

### Kolonieen des Bacillus megatherium.

Die Kolonieen dieses Organismus sind denen von Bac. subtilis sehr ähnlich. Sie zeigen dieselben Strukturverhältnisse und auch die Lage der Bakterienfäden ist ganz ähnlich.

Da die Fäden, die Bac. megatherium bildet, nicht so lang sind wie bei Bac. subtilis, so treten die Krümmungen der Fäden an den Rändern der Kolonieen weniger stark hervor. Jedoch ließ sich auch hier an einigen Präparaten die wellenartige Struktur ziemlich deutlich erkennen. Sporenbildung trat am stärksten an der Oberfläche und den Rändern der Kolonieen auf.

In diesen Partieen der Kolonie scheinen die Bakterien auch am kräftigsten entwickelt zu sein, da sie voll von Protoplasma, auch völlig normal gestaltet waren und sich leicht färben ließen.

Zum Teil nahmen diese Zellen auf dem Nährsubstrat selbst die Farbe ziemlich gut an, jedoch nur an den Stellen, die nicht zu weit von dem Kolonierand entfernt waren (vgl. Fig. 12, Taf. III).

In der zentralen Partie der Kolonieen und in den mittleren und unteren Schichten färbten sich die Zellen entweder nur sehr schwach oder gar nicht. Die Zellen bestanden hier fast nur aus der Zellmembran, waren sehr arm an Protoplasma und Zellflüssigkeit und zeigten auch keine Sporen, vermutlich infolge von Sauerstoffmangel. Wahrscheinlich waren die meisten dieser Bakterien bereits abgestorben.

Ueber die Fähigkeit der Bakterien, Farbstoffe anzunehmen, schreibt Gotschlich (26), daß „sich aus dem völligen Mangel hieran mit Sicherheit auf eingetretenen Tod der Bakterienzellen schließen lasse".

An anderen Stellen waren auch die Zellhüllen fast verschwunden und waren nur noch organische Reste vorhanden. In den mittleren Schichten der Kolonieen traten ungeheuere Mengen teils rundlicher, teils dicker, viereckiger Gebilde auf, die als Involutions- oder Degenerationsformen anzusehen sind. Sie waren entweder sehr arm an Zellinhalt und hatten dann nur eine schwache Färbung angenommen, oder ließen sich leicht färben, und ließen dann in ihrem Innern eine ziemliche Anzahl von Zellkörnchen erkennen. Es ist wohl anzunehmen, daß sich in diesen Teilen der Kolonieen die Ernährungsbedingungen sehr ungünstig gestaltet hatten. Hierüber schreibt Gotschlich wieder: „Der äußerste Grad von Degeneration zeigt sich in alten Kolonieen in völligem Zerfall der Bakterien in unregelmäßige Teilstücke und Körner, ein Vorgang, für den Kruse die Bezeichnung ‚Fragmentation' vorschlägt; auch hielt er es durchaus für nicht ausgeschlossen, daß diese Körnchen bei Uebertragung auf neues Nährsubstrat sich wieder regenerieren. In dieser

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weise sind auch wahrscheinlich die Befunde Blieseners bei Cholerabacillen (Existenz ovaler, glänzender Körperchen in alten Cholerakulturen in Wasser, aus denen dann wieder normale Vibrionen hervorgehen) zu denken."

Die Bildung von Involutionsformen oder, richtiger gesagt, die Umwandlung gesunder Zellen in Involutionsformen scheint ziemlich schnell vor sich zu gehen. Kolonieen, die 8—10 Tage alt sind, bestehen zu $^2/_3$ der ganzen Breite der Kolonie aus solchen Formen. Da sich die Bakterien an der Oberfläche, obwohl sie wahrscheinlich ebenso alt sind, doch noch in gutem Zustande befinden, so müssen wir schließen, daß die Gegenwart oder das Fehlen von Stoffwechselprodukten einen großen Einfluß auf die Lebensvorgänge der Bakterien ausübt. Freilich läßt sich nicht bestimmt sagen, ob diese Zellen, trotz ihres guten Aussehens noch alle am Leben waren. Nach Gotschlich läßt sich aus der morphologischen Betrachtung kein sicherer Schluß auf die Lebensfähigkeit eines in Degeneration begriffenen Bakteriums ziehen; einerseits können völlig normal erscheinende Bakterien (z. B. nach Abtötung durch Chloroform) definitiv abgestorben sein, andererseits können Gebilde, die mit dem betreffenden Bakterium gar keine Aehnlichkeit haben, in Körnchen zerfallene Choleravibrionen bei Pfeiffers Reaktion, Degenerationsformen des Pestbacillus, in infizierten Körpern noch völlig lebensfähig sein und sich bei Uebertragung auf frisches günstiges Nährsubstrat regenerieren.

## 2. Die Struktur der Hefekolonieen.

Ich untersuchte die Kolonieen verschiedener Hefen. Am eingehendsten beschäftigte ich mich mit zwei Saccharomyces-Arten: 1) mit einer Brennereihefe (Lindner 86 von Král) und 2) mit einer Frohberg-Hefe, und dann weiter mit einer Mycoderma-Art aus Essigkahmhaut, die ich der Laboratoriumssammlung entnahm.

Die erstgenannte Saccharomyces-Art wählte ich wegen ihrer schön ausgebildeten Kolonieen, die unter dem Einfluß des Wechsels von Licht und Dunkelheit die bereits erwähnten konzentrischen Zonen zeigen, und die andere Art, weil sie, im Gegensatz zu der ersteren, ganz einfache Kolonieen bildet. Die Kulturen stellte ich meistenteils in der Weise an, daß ich Platten von Würzeagar bezw. Würzegelatine mit einer Platinöse voll Flüssigkeit einer in starker Gärung begriffenen Würzekultur der betreffenden Hefeart impfte. Mit Rücksicht darauf, daß die Kulturen später geschnitten werden sollten, wählte ich gewöhnlich Agar und benutzte nur in Ausnahmefällen Gelatinekulturen.

Je nach dem besonderen Zweck, den ich im Auge hatte, wurden die Kulturen im Lichte oder im Dunkeln, in Luft oder in Wasserstoff, bei schwankender oder konstanter Temperatur gehalten, um nach einer Wachstumsperiode von 4—15 Tagen fixiert und untersucht zu werden.

Infolge einer sehr starken Anhäufung von Zellmassen oder aus anderen unbekannten Gründen spalteten sich manche Kolonieen beim Einbetten in Paraffin in vertikaler Richtung, oder lösten sich von ihrer Unterlage, der unteren Agarschicht ab. Meistens jedoch ließen sie sich ganz gut präparieren und schneiden.

Will (28) beschäftigte sich mit dem Studium des Wachstums von 4 Arten untergäriger Bierhefen, die er teils in Flüssigkeiten, teils auf festen Nährböden züchtete. Er unterscheidet nach den verschiedenen Formen, welche die Hefezellen annehmen, je nachdem sie auf Flüssig-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keiten als Kahmhaut oder auf festen Nährböden, als Kolonieen wachsen, 3 verschiedene Generationsformen dieser Hefearten, nämlich 1) Bodensatzhefe, 2) Kahmhautzellen 1. Generation und 3) Kahmhautzellen 2. Generation.

Will (29): „Mit diesem Befunde war auch Aussicht vorhanden, möglicherweise ein Merkmal aufzufinden, welches die Auffassung stützen könnte, daß es sich bei diesen verschiedenen Generationen der Hefe nicht bloß um vorübergehende, sehr labile Formveränderungen der Hefezellen, welche durch äußere Einflüsse, eine Veränderung des Nährsubstrates, insbesondere aber Mangel an Zucker, Zunahme des Säuregehaltes, intensive Berührung mit der Luft u. s. w. hervorgerufen werden, sondern um verschiedene, selbständige und feststehende, mit charakteristischen Eigenschaften begabte und durch diese begrenzte Formen handelt, welche allerdings, wenn auch nicht immer, durch Darbietung geeigneter Lebensbedingungen allmählich wieder ineinander übergeführt werden können."

Wir sehen von dem ersten Teil der Arbeit Wills ab und wenden uns gleich dem Teile zu, in welchem die Wachstumsformen der 4 Hefen auf festen Nährböden untersucht werden, da dieser Teil Beobachtungen enthält, die hier erwähnt werden müssen. Ich werde später mehrmals auf diese Arbeit zurückkommen und gebe daher später einige Auszüge daraus.

Nach Will (30) können die Ursachen, welche die Wachstumsform der Hefekolonieen auf festem Substrat bedingen, innere und äußere sein. In erster Beziehung kommt die Abstammung der Mutterzelle, das Alter der Kolonieen und die Beschaffenheit der eingesäten Zellen in Betracht. Die äußeren Ursachen, welche die Wachstumsform der verschiedenen Hefen bezw. deren verschiedene Entwickelungszustände beeinflussen können, sind:

1) Die Zusammensetzung der Nährlösung, in welcher sich die Hefe vor der Einsaat in das feste Substrat befand;

2) die chemische und physikalische Beschaffenheit des letzteren Substrates;

3) die Temperatur, welcher die Kulturen in den flüssigen und festen Substraten ausgesetzt sind;

4) die Lüftung;

5) in besonderen Fällen die Dicke der Gelatineschicht;

6) der Feuchtigkeitsgrad in der feuchten Kammer.

In meinen Versuchen habe ich, um die Verhältnisse zu vereinfachen, immer mit möglichst gleichartig zusammengesetzten Nährböden und genau nach demselben Verfahren gearbeitet, so daß hierdurch die 3 ersten obigen Variationsursachen ausgeschaltet wurden. Die Temperatur der Luft im Laboratorium schwankt sehr stark, ich bemühte mich jedoch, so gut es ging, die Kulturen unter möglichst geringen Temperaturschwankungen zu halten, durch Auflegen auf Thermostaten, Einpacken in Glasschalen, Watte und Papier. In besonderen Fällen, wenn es sich um konstante Temperatur handelte, kam der Brutschrank zur Verwendung.

Da ich sämtliche Kulturen in Petri-Schalen ansetzte, war der Luftzutritt gut und gleichmäßig. Auch der Feuchtigkeitsgehalt der umgebenden Luft dürfte nur zwischen engen Grenzen geschwankt haben.

Lindner (31) gibt über die Entstehung der Hefekolonieen folgende Erklärung: „Beim Anblick solcher Hefekolonieen drängt sich die Frage auf, wodurch die verschiedene Wachstumsweise bedingt ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Eine teilweise Erklärung erhalten wir, wenn wir die Kolonie vorsichtig mit Wasser abspülen, bis wir auf die Gelatine kommen. Bei konzentrisch gezeichneten Kolonieen finden wir am Grunde ebenfalls noch viel schärfer ausgeprägt konzentrische Kreise, in denen sich die Hefe festgewurzelt hat. Die Hefe am Grunde geht gewissermaßen sprungweise vor. Manche Riesenkolonieen, z. B. von vielen untergärigen Brauereihefen, lassen sich vollständig von der Gelatine abheben, ohne daß von dieser etwas mitgerissen wird; andere Hefen pressen sich dagegen tief in sie ein und bilden unten traubenähnliche Massen. Wieder bei anderen Hefearten wachsen die Kolonieen in dünnen Scheiben strahlenförmig aus und zerteilen sich mit zunehmendem Alter bei gleichzeitigem Eintritt von Nahrungsmangel und Trockenheit in ein zartes Wurzelsystem.“ Die Methode des Abspülens habe ich zuweilen angewendet, um Anhaltspunkte über die Art der Mycelbildung zu gewinnen, hauptsächlich bei Gelatinekulturen. Bei Agarkulturen, die sich leicht schneiden ließen, war ein Abspülen nicht nötig.

**Die Kolonieen von Arten von Saccharomyces cerevisiae.**

1) Brennereihefe Lindner 86.

Die Kolonieen dieser Hefe bilden unter normalen Kulturbedingungen auf Würzeagar im Alter von 2—3 Wochen große, etwas saftig aussehende, dünne Scheiben mit ausgebuchtetem Rande. Wenn das Licht freien Zutritt zur Kolonie hat, zeigt sie ungefähr vom 3. Tage an die erwähnte Zonenbildung (siehe oben). Jeden Tag wächst eine neue Zone hinzu, so daß nach 3 Wochen gegen 20 Ringe entstanden sind.

Kulturen, die im Dunkeln wuchsen, zeichnen sich dadurch aus, daß sie keine Zonen bilden und etwas matt aussehende Scheiben darstellen, die den Kolonieen von Frohberg-Hefe sehr ähnlich, jedoch weniger hoch als diese sind. Von dem Zentrum gehen bei beiden Arten von Kolonien mehr oder weniger tiefe radiale Furchen nach dem Rande hin.

Fig. 13, Taf. III zeigt die obere Randpartie einer 7—10-tägigen Kolonie, die hauptsächlich rundliche oder ovale Zellen von etwa $4 \times 6\ \mu$ Größe enthielt. Die Zellen enthalten große Vakuolen, welche fast das ganze Innere ausfüllen. Zuweilen, aber nicht häufig, kommen auch langgestreckte, wurstförmige Zellen, $2{,}5 \times 7\ \mu$, vor. Mitunter treten auch Riesenzellen (Größe $8 \times 9\ \mu$) auf, und zwar häufiger in den unteren Schichten als in den höher liegenden. Solche Gebilde bestehen manchmal aus zwei großen, durch einen Schlauch miteinander verbundenen Zellen.

In den mittleren Schichten der Kolonieen finden sich teils Zellen, die länger sind als die Zellen der oberen Schichten, ihnen aber sonst gleichen, teils kleine runde Zellen ($4 \times 4\ \mu$).

Alle Zellen dieser Schicht sind reicher an Zellinhalt und haben kleinere Vakuolen als die Zellen der oberen Schicht. Die Hauptachsen der langgestreckten Zellen haben eine senkrechte Lage.

An der Grenze zwischen Kolonie und Nährboden, manchmal in diesen hineingewachsen, stößt man auf sehr langgestreckte Zellen, die eine Größe bis zu $2 \times 42\ \mu$ erreichen (siehe Fig. 14). Sie sind nicht so reich an Inhalt wie die oben liegenden Zellen und haben meistens 3—4 Vakuolen. Ihrem Charakter nach scheinen sie mit den von Will als Kahmhautzellen zweiter Generation bezeichneten Zellen identisch zu sein.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hier fehlen rundliche oder ovale Zellen vollständig, zuweilen dagegen trifft man Riesenzellen von $9 \times 6\ \mu$ Größe an. Wie schon erwähnt, wachsen häufig die Zellen der unteren Schicht in das Substrat hinein, und zwar nicht in einzelnen Fäden, sondern in großen, zusammenhängenden Massen, so daß diese Auswüchse bei schwacher Vergrößerung wie unregelmäßige nach unten gewachsene Höcker aussehen. Diese Mycelmasse oder, wie Will sich ausdrückt, dieser „rhizoidartige Anhang" ist am kräftigsten in der Mitte der Kolonie ausgebildet und wächst hier senkrecht nach unten. Gegen den äußeren Rand zu wird sie schwächer und weicht von der senkrechten Richtung in deutlicher Biegung nach außen ab. Will schreibt hierüber: „Je größer diese Anhänge werden, desto mehr zeigen sie eine ausgesprochene Wachstumsrichtung nach dem Rande der Kolonie". Beim Abspülen der Kolonie mit Wasser findet man, wie Lindner erwähnt, Ringe von Mycelbildung im Substrat, die genau den Zonen entsprechen, welche an der Kolonie vorhanden waren.

An den Rändern der Kolonieen finden sich längliche und ovale Zellen, die entweder schief oder horizontal liegen. Sie enthalten gewöhnlich eine kleine Vakuole und viel Protoplasma, ihre durchschnittliche Größe beträgt $3 \times 6\ \mu$.

In älteren Kolonieen fand ich mehrmals am äußersten Rande eine große Anzahl von Riesenzellen, die wahrscheinlich der Trockenheit und Anhäufung von Stoffwechselprodukten, die dort herrschte, ihre Entstehung verdankten.

Von der obersten bis zur untersten Zellschicht lassen sich also in allmählichem Uebergang alle Zellformen, von einer fast runden bis zu einer langgestreckten, fadenartigen Gestalt verfolgen.

2) Kolonieen der Frohberg-Hefe.

Die Kolonieen dieser Hefe auf Würzeagar sind mehr oder weniger rund mit scharf ausgebuchteten Rändern. Im allgemeinen ragen die Kolonieen etwas höher über die Oberfläche des Nährbodens empor als die der Brennereihefe 86, und haben eine spitze, erhabene, zentrale Partie. Von dem Zentrum gehen radiale Furchen nach den Rändern zu, aber von Zonenbildung ist nichts wahrzunehmen. Häufig gelingt es, die ganze Kolonie von ihrer Unterlage abzuheben. Nach dem Abspülen mit Wasser läßt sich nichts von einer Mycelbildung erkennen.

Die in der obersten Schicht (Fig. 15, Taf. IV) liegenden, vorwiegend runden oder ovalen Zellen ($4 \times 5\ \mu$) sind sehr arm an Inhalt und haben große Vakuolen. In der Mitte einiger dieser Zellen fand ich runde, dunkle Körper, deren Natur sich nicht näher feststellen ließ. Riesenzellen kamen verhältnismäßig selten vor.

In den untersten, auf dem Substrat ruhenden Schichten fanden sich sehr spitz oder lang ausgezogene Zellen mit kleinen Vakuolen und einer Größe von $2\frac{1}{2} \times 10$—$15\ \mu$. Sie hatten der Hauptsache nach eine senkrechte Stellung (siehe Fig. 16) und man konnte deutlich sehen, daß sie in mehreren Schichten übereinander gelagert, aber nicht in das Substrat hineingewachsen waren.

Die Zellen der Randpartie sind etwas dicker als die der unteren Schichten und weniger langgestreckt. Neben diesen zwei Formen kommen zuweilen noch Zellen vor, die dadurch ausgezeichnet sind, daß ihr Protoplasma eine große Anzahl kleiner Vakuolen aufweist. Die Ursache dieser Erscheinung ist schwer anzugeben. (Schluß folgt.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Die Art No. 2 bot insofern ein besonderes Interesse, als sie ähnlich wie No. 15 und 16 selbst bei den niedersten, um 0° liegenden Temperaturen sich noch sehr gut entwickelt. Die Kulturen wiesen nach 1 Monat starke Hautbildung und starke Absätze auf, die sich auch auf allen übrigen Kulturen neben Ringbildung vorfand. Die Hautbildung tritt auch bei den höheren Temperaturen wie bei anderen Organismen nicht zurück. In Beziehung auf die verschiedenen Zellformen macht sich ein gewisser Einfluß der Temperatur insofern geltend, als schon bei 6° C, noch mehr aber bei den niedersten Temperaturen Sproßverbände langgestreckter Zellen häufiger waren, ja sogar vorherrschten.

Haut wie Ring bestehen im übrigen vorherrschend aus kugelförmigen Zellen. Riesenzellen sind anscheinend bei mittleren Temperaturen häufiger als bei den übrigen.

Die Art No. 15 zeigte bei allen Temperaturen, ausgenommen bei 35° C, wo nur eine sehr geringe Vermehrung im Absatz stattgefunden hatte, das gleiche Wachstum in Form einer Haut, und zwar war eine solche neben einem geringen Absatz selbst bei den niedersten um 0° liegenden Temperaturen gewachsen.

Zwischen den Kulturen bei verschiedenen Temperaturen bestehen nur graduelle Unterschiede je nach der Stärke der entwickelten Haut. In Beziehung auf die auftretenden Zellformen herrscht zwar ebenfalls Uebereinstimmuug, jedoch ist ein Unterschied nach der Richtung festzustellen, daß bei 13° C größere rundliche Zellen (6 $\mu$) und bei 6° C wieder Sproßverbände gestreckter Zellen häufiger auftraten.

Bei No. 16 war ebenfalls ein Unterschied zwischen den einzelnen bei den verschiedenen Temperaturen gewachsenen Kulturen vorhanden. Hautbildung wie bei den übrigen hatte bei der höchsten und niedrigsten Temperatur (um 0°) nicht mehr stattgefunden, sondern nur Ringbildung und zwar bei letzterer noch eine sehr starke. Ebenso deuteten starke Absätze auf eine reichliche Vermehrung trotz der niedrigen Temperatur. In gleicher Weise wie bei den beiden vorhergehenden Organismen sind die langgestreckten Zellen in den bei niederen Temperaturen gewachsenen Kulturen häufiger als bei den höheren Temperaturen. Im Ring sind wieder die kugelförmigen bis ellipsoidischen Zellen vorherrschend.

Der Organismus der dritten Gruppe verhält sich wie No. 5; bei allen Temperaturgraden, bei welchen er sich entwickelt, war eine Haut von verschiedener Stärke vorhanden. Ebenso waren die Zellformen mit den charakteristischen Kristalloiden in der Haut die gleichen; immer herrschten Sproßverbände langer, dünner spindelförmiger Zellen mit 1—3 Oelkörperchen vor.

Ueber die Wachstumserscheinungen in H e f e z u c k e r w a s s e r bei

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den höchsten und niedersten Temperaturen ist nur sehr wenig zu sagen. Mit Ausnahme von No. 5 war die Vermehrung nur eine sehr geringe bis mäßige und erfolgte ausschließlich am Boden der Kulturgefäße. Die Zellformen waren die normalen mit den charakteristischen Erscheinungen. No. 5 wies dagegen bei 35° C starke Absätze und teilweise auch Ringbildung auf. Vielfach fanden sich abnorm gewachsene Zellen vor. Die Vegetation war ungemein kräftig und glykogenreich, hatte jedoch die Absätze nicht fadenziehend gemacht. Bei den Temperaturen um 0° fand nur eine geringe Vermehrung und zwar im Bodensatz ausschließlich mit kräftigen kugelförmigen Zellen statt.

In der zweiten Gruppe der Organismen erzeugte die Art No. 1 bei 40° C einen ziemlich starken Ring und ebensolche Absätze von kräftigen und typisch entwickelten Zellen. Im Ring fanden sich, wie gewöhnlich, kugelförmige Zellen, im Absatz Sproßverbände gestreckter Zellformen. No. 9 entwickelte bei 35° C noch einen geringen Ring und eine schwache Haut sowie starke Absätze mit vorherrschend kugelförmigen Zellen. Sehr reichlich fanden sich auch üppige Sproßverbände wurstförmiger Zellen vor. Bei 40° C und bei den Temperaturen um 0° fand nur eine geringe Vermehrung im Bodensatz statt und zwar bei letzteren Temperaturen nur mit kugelförmigen Zellen. Die Kulturen von No. 10 wiesen bei 35° C starke Absätze und einen starken Ring mit sehr kräftiger Vegetation auf. Im Ring waren wieder kugelförmige und davon abgeleitete Formen (bis spitz-ellipsoidisch) vorherrschend. Im Absatz fanden sich in sehr reichlicher Zahl ausgedehnte Sproßverbände wurstförmiger Zellen vor. No. 2 hatte bei den Temperaturen um 0° noch eine starke Haut und starke Absätze erzeugt, in welchen wieder gestreckte Zellformen vorherrschten. No. 15 hatte sich bei 35° C und den Temperaturen um 0° nur im Bodensatz mit den bei dieser Art auch sonst auftretenden Zellformen entwickelt. Bei No. 16 waren dagegen wie in den Kulturen mit gehopfter Würze bei den gleichen Temperaturgraden eine starke Haut und starke Absätze zur Ausbildung gelangt. Mit den Würzekulturen bestand auch noch insofern Uebereinstimmung, als in Hefezuckerwasser gestreckte Zellformen vorherrschten.

Im Reinhefebier war bei den Temperaturen um 0° die Vermehrung, wo überhaupt eine solche stattgefunden hatte, wie schon bemerkt, eine sehr geringe und vollzog sich mit Ausnahme von No. 15, bei welcher Art Anfänge zu einer Ringbildung beobachtet wurden, nur auf dem Boden der Kulturgefäße.

## Wachstumserscheinungen in und auf festen Nährböden.

### a) Einzellkolonieen.

Die Kolonieen wurden in der üblichen Weise mit 10-proz. Würzegelatine in der Boettcherschen feuchten Kammer angelegt und bei Zimmertemperatur gehalten.

Für die untergärigen Bierhefen habe ich drei Wachstumstypen der Einzellkolonieen unterschieden [1]. Diese treffen auch für die vorliegenden Organismen zu, und seien sie deshalb hier kurz angeführt. Typus I. Regelmäßige Kolonieen von Linsen-, Kugel- oder Zapfenform. Die Peripherie der regelmäßigen Kolonieen zeigt nur diejenigen Unebenheiten und Einbuchtungen, welche bei der Aneinanderlagerung von kugel-

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. XXI. 1898. p. 446.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

förmigen und ellipsoidischen Körpern immer entstehen („Maulbeerform"). Der Querschnitt der regelmäßigen Kolonieen erscheint in jeder Höhe der Einstellung rundlich; über seinen Rand ragen keine Sproßverbände hervor. Typus II. Unregelmäßige Kolonieen mit regelmäßigem Kern. Bei diesen Kolonieen ist immer ein mehr oder weniger regelmäßiger Kern wie bei dem I. Typus der Wachstumsform vorhanden, jedoch ragen hier Sproßverbände über den Rand der Kolonie hervor. Der Entwickelungsgrad, welchen diese Sproßverbände erreichen können, ebensowie die Form der Zellen, welche sie zusammensetzen, kann ein sehr verschiedener sein. Ebenso ist auch die Zahl und die Verteilung der Sproßverbände eine sehr verschiedenartige („platzende Bombe", „Polypenform" u. s. w.). Typus III. Völlig unregelmäßige Kolonieen, durch Uebergänge mit dem II. verbunden. Die aus den eingesäten Mutterzellen entstandenen Tochterzellen schmiegeu sich hier nicht wie bei dem I. und II. Typus der Mutterzelle dicht an, sondern letztere entsendet schon von Anfang an nach den verschiedensten Richtungen hin Sproßverbände, so daß die jugendliche Kolonie einen oder mehrere von der Mutterzelle ausstrahlende Sproßverbände darstellt, deren Verzweigung in allen Einzelheiten leicht übersehbar ist und deren Glieder einen ziemlich festen Zusammenhalt untereinander haben. Wenn sich auch in einem späteren Entwickelungsstadium sowohl in der zentralen Partie neugebildete Zellen der Sproßverbände einlagern, als auch an den überragenden Enden der Sproßverbände sich solche angehäuft haben, so findet doch niemals eine Ausgleichung und Abrundung der Kolonieen statt, vielmehr bleibt deren Peripherie immer mindestens buchtig, meist aber sehr stark gelappt; zuweilen ist die an und für sich unregelmäßige Kolonie an der Peripherie in ausgedehnte, nach allen Richtungen hin ausstrahlende Sproßverbände aufgelöst, so daß die Umgrenzung der stark herangewachsenen Hefeflecke schon makroskopisch, mindestens aber unter der Lupe wie behaart erscheint („Amöbenform" u. s. w).

Bei der Reinzüchtung der Organismen wurden in den meisten Fällen nur mehr oder weniger kugelförmige Zellen aus den ursprünglichen Kulturen, in welchen der genetische Zusammenhang zwischen den verschiedenen vorhandenen Zellformen nicht ersichtlich war, ausgewählt. Hierfür war die Anschauung maßgebend, daß es sich nach dem Aussehen der Zellen ausschließlich um Torula-Arten im Sinne von Hansen handelte. Die späteren Untersuchungen bestätigten teilweise diese Anschauung, teilweise nicht.

## Erste Gruppe.

Die Wachstumsform der Einzellkolonieen zeigte bei der Reinzüchtung ausschließlich den Wachstumstypus I. Auch in der vorliegenden Versuchsreihe, die nach Verlauf von mehreren Jahren teilweise wiederholt durchgeführt wurde, traf dies mit wenigen Ausnahmen zu, so bei No. 3 + 4 und 5, bei welchen die Wachstumsform teilweise nicht mehr streng regelmäßig war, so lange die Kolonieen allseits von der Gelatine eingeschlossen blieben. Die Unregelmäßigkeiten von No. 3 + 4 und 5 waren jedoch nur so geringe, daß man im Zweifel blieb, ob die Kolonieen dem I. oder dem II. Wachstumstypus zugerechnet werden sollten. Die oberflächlich liegenden Kolonieen oder solche, welche ursprünglich von der Gelatine eingeschlossen, diese durchbrechen und sich dann oberflächlich ausbreiten, werden völlig unregelmäßig (Wachstumstypus III). Die Ausbreitung der oberflächlich gelegenen Kolonieen unterblieb in der vor-

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

liegenden Versuchsreihe während einer 4—5-tägigen Beobachtungszeit nur bei No. 5 und 6. Bei No. 3 + 4, 11 und 17 schlossen die Zellen der ausgebreiteten Kolonieen wie die Kolonieen von Mycoderma und Willia Luft zwischen sich ein.

Zuweilen fanden sich nur aus Riesenzellen bestehende Kolonieen, die aber immer sehr klein blieben.

Je nach dem Grade der Vakuolisierung und der Beschaffenheit des Plasmas besitzen die Kolonieen der verschiedenen Organismen unter dem Mikroskop ein verschiedenes Aussehen. Die Kolonien von No. 3 + 4 sowie No. 6, deren Zellen große Vakuolen aufweisen, sind im durchfallenden Lichte sehr blaß. Die ziemlich scharf umgrenzten, dunkleren Kolonieen von No. 7 erscheinen bei schwacher Vergrößerung infolge ihres reicheren Gehaltes an Granulis (zum größten Teil Oeltröpfchen) fein granuliert. Von deren Beschaffenheit und Größe hängt jedenfalls die dunklere Färbung der Kolonieen ab. Die Kolonieen von No. 7 werden verhältnismäßig groß, schleimig, fadenziehend und blaß, trotzdem die Zellen sehr viele Granula enthalten. Die Kolonieen ziehen stark Wasser an und zerfließen infolgedessen leicht. Die einzelne Zelle ist von einem Schleimhof umgeben.

Verhältnismäßig groß sind auch die Kolonieen von No. 8, welche ebenfalls leicht zerfließen, aber nicht fadenziehend werden. Die halbkugelig über die Oberfläche hervorgewölbten Kolonieen mit reich vakuolisierten Zellen und ohne stärker hervortretende Granula sind blaß, schleimig-glänzend. Viele Kolonieen sind von einem Schleimhof umgeben; sie liegen wie Schleimtropfen auf der Gelatine. Es mag hier daran erinnert werden, daß die Hautbildungen von No. 8 ebenfalls schleimig, wenigstens anfangs, sind.

## Zweite Gruppe.

No. 1. Bei der Reinzucht wiesen anfangs alle Kolonieen den Typus III auf. Später glichen sich die Unregelmäßigkeiten mehr oder weniger aus, doch blieb der Typus III in der lockeren Umrandung der Kolonieen beibehalten. Eine Ausgleichung der Unregelmäßigkeiten fand auch in der Weise statt, daß sich die Sproßverbände dem Kern parallel anlegten, wodurch sich die Wachstumsform dem II. Typus näherte.

In der vorliegenden Versuchsreihe war ebenfalls keine Kolonie völlig regelmäßig. Auch die nur aus kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen bestehenden, welche anfangs streng regelmäßig (I. Typus) oder nahezu regelmäßig waren, zeigten durch einzelne hervorragende Sproßverbände Unregelmäßigkeiten. Diese Unregelmäßigkeiten waren in verschiedenem Grade abgestuft und erreichten ihren Höhepunkt in Kolonieen, welche sich aus langgestreckten, wurstförmigen Zellen aufbauten. Hier ragten weitausgedehnte Sproßverbände sehr langgestreckter Achsenglieder mit meist nur sehr kurzen, gestreckt-ellipsoidischen Seitengliedern wie in den Tröpfchenkulturen während der ersten Entwickelungsstadien aus einem festeren Kern nach allen Richtungen hervor. In allen Zellen treten die Oelkörperchen sehr auffällig hervor.

No. 9. Die Kolonieen weisen die 3 Wachstumstypen auf. Die wurstförmigen Zellen vermehren sich entweder nur anfangs oder überhaupt nur mit kugelförmigen, so daß zunächst fast ausnahmslos nur der I. Wachstumstypus vertreten ist. Nach mehrfachen Versuchen können bei gleichem Aussaatmaterial Parallelkulturen sich so verschieden entwickeln, daß in der einen oder der anderen fast ausschließlich streng

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

regelmäßige (I. Typus) Kolonieen mit von einer dunklen Linie scharf begrenzten Umrissen vorhanden sind. Wenn an diesen Kolonieen Unregelmäßigkeiten auftreten, erscheinen sie meist nur gering (II. Typus); in sehr geringer Zahl sind völlig unregelmäßige Kolonieen (III. Typus) mit dichterem Kern und weitausgebreiteten Sproßverbänden vorhanden. Diese Kolonieen gleichen den analogen von No. 2. Die Verzweigung ist eine reichliche, die Seitenglieder (auch solche 2. Ordnung) von gleicher Länge wie die Achsenglieder. Die Sproßverbände erscheinen infolgedessen mehr oder weniger büschelförmig. In anderen Parallelkulturen herrscht der II. und III. Wachstumstypus vor.

Kolonieen im allgemeinen blaß, erscheinen jedoch bei schwacher Vergrößerung wie granuliert, wahrscheinlich eine Folge der Zusammenlagerung der sehr kleinen Zellen, wozu noch eine stärkere Zellhaut beitragen mag. In den Zellen fehlen Granula; es ist nur ein wenig hervortretendes Oelkörperchen vorhanden.

No. 10. Bei der Reinzüchtung vorherrschend Wachstumstypus II, von diesem Uebergange nach I und III, jedoch selten. Bei der raschen (am 3. Tage) Verflüssigung der Gelatine in der feuchten Kammer sind über die Wachstumserscheinungen nur wenig genaue Angaben zu machen. Beim wiederholten Versuch am 2. Tage Typus I und III. Die Kolonieen mit dem I. Typus bestehen aus im allgemeinen kugelförmigen Zellen. Die dunkleren Kolonieen erscheinen zwar ebenfalls schwach granuliert, sind jedoch viel homogener als bei No. 9. Die Umgrenzung der Kolonieen ist nicht durch eine dunklere Linie gekennzeichnet.

Die Sproßverbände wurstförmiger und gestreckt-ellipsoidischer Zellen der Kolonieen mit dem III. Wachstumstypus sind sehr blaß und vielfach von Luft eingehüllt; sie sind an den Spitzen meist wenig verzweigt; nur kurze Seitenglieder 1. Ordnung, weiter rückwärts solche 2. Ordnung. In den einzelnen Zellen sind Oelkörperchen erkennbar, treten jedoch nicht stark hervor.

No. 2. Bei der Reinzüchtung mit ganz vereinzelten Ausnahmen nur I. Typus. Bei wiederholtem Versuch nur Wachstumstypus III. Die Kolonieen sind denjenigen von No. 1 ähnlich, unterscheiden sich jedoch von diesen dadurch, daß in der Regel an den Sproßverbänden wurstförmiger Zellen die Achsenglieder zunächst noch kurz sind und die seitliche Verzweigung eine reichlichere ist; Seitenglieder 2. Ordnung. Es besteht also Uebereinstimmung mit den Wachstumserscheinungen in Würzetröpfchenkulturen. An einzelnen Kolonieen Sproßverbände mit sehr langgestreckten Achsengliedern ähnlich wie bei No. 1; zuweilen entspringen dem Kern der Kolonie mycelfadenähnliche Zellen.

No. 15. Bei der Reinzüchtung Wachstumstypus II. In der vorliegenden Versuchsreihe zeigen die stark entwickelten Kolonieen die drei Wachstumstypen; vorherrschend sind der II. und III. Typus I wird von den kleinen kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen gebildet. Typus II ist jedenfalls nur durch Auswachsen der Kolonien mit Typus I entstanden. Die nach dem III. Typus gewachsenen Kolonieen bestehen aus wurstförmigen Zellen. Die Glieder der Sproßverbände, welche nicht so weit wie bei No. 16 entwickelt sind, bleiben verhältnismäßig kurz. Die Verzweigung ist eine mäßige; Seitenglieder, und zwar an der Spitze der Sproßverbände nur solche 1. Ordnung, von etwa gleicher Länge wie die Achsenglieder; die Kolonieen sind kompakter. Die Zellen der oberflächlich gelegenen Kolonieen, von denen sich einzelne durch Zerfließen unregelmäßig ausbreiten, sind von Lufthüllen umgeben.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Umriß der Kolonieen mit Wachstumstypus I durch eine dunkle Linie begrenzt. Die Kolonieen erscheinen bei schwacher Vergrößerung ebenso wie die nach den beiden anderen Typen gewachsenen fein granuliert. Je ein kleines Oelkörperchen in den rundlichen Zellen.

No. 16. Bei der Reinzüchtung Wachstumstypus III. Dichter Kern mit langen, fadenförmigen Auswüchsen. Bei wiederholtem Versuch anfangs die drei Wachstumstypen. Typus II ist jedenfalls nur durch Auswachsen der Kolonieen mit Typus I entstanden, der sich, wenn auch nur vereinzelt und auch nicht völlig rein vorfindet. Die Unregelmäßigkeiten bei Typus II sind meist durch Sproßverbände wurstförmiger Zellen verursacht. Bei Typus III ist der dichtere Kern der Kolonieen oft von einem breiten Hof umgeben, der aus einem Flechtwerk von Sproßverbänden sehr langer, dünner Zellen gebildet wird. Etwa vom 3. Tage ab ausschließlich Kolonieen mit Wachstumstypus III durch Entwickelung von Sproßverbänden wurstförmiger Zellen. Einzelne Kolonieen zerfließen, die kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen liegen dann meist einzeln, während die Sproßverbände wurstförmiger Zellen fest zusammenhalten. Die Sproßverbände dieser Zellen haben sich sehr häufig ohne stärkere Verzweigung, in einzelnen Fällen überhaupt ohne eine solche in dünnen langen Fäden sehr weit ausgebreitet. Die Verzweigung ist überhaupt meist eine sehr geringe; die Seitenglieder sind kurz. Die Kolonieen entwickeln sich ungemein üppig.

Farbe der Kolonieen im Verhältnis zu gleich großen anderer Arten sehr licht. Kolonieen bei schwacher Vergrößerung fein granuliert. In den kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen je ein sehr kleines Oelkörperchen.

## Dritte Gruppe.

No. 12. Bei der Reinzüchtung vorherrschend Wachstumstypus I, vereinzelt auch III, bei welchem zahlreiche feine, weit ausgedehnte Auswüchse vorhanden sind. Bei wiederholtem Versuch die drei Wachstumstypen; die nach Typus III gewachsenen ungemein charakteristisch. Die Kolonieen sind am 3. Tage sehr stark entwickelt und makroskopisch sichtbar. In relativ geringer Zahl streng regelmäßige Kolonieen (I. Typus) und wenige mit dem II. Typus. Die Abweichungen vom I. Typus sind sehr gering. Die Kolonieen mit dem I. und II. Typus sind denjenigen von No. 9 zum Verwechseln ähnlich. Vorherrschend sind die meist sehr üppig entwickelten, vollständig unregelmäßigen Kolonieen mit einem dichteren Kern, von welchem sich aus dünnen, langgestreckten Zellen bestehende Fäden durch die ganze Gelatine hin ausbreiten. Charakteristisch ist für diese Fäden die sehr spärliche, sehr häufig vollständig fehlende Verzweigung. Querwände zwischen den Gliedern der einzelnen Fäden breit, Fäden an diesen Stellen nur wenig eingezogen, wodurch der Eindruck eines Mycels noch verstärkt wird, insbesondere an den dünner werdenden Spitzen. Die Fäden durchwachsen schließlich die ganze Gelatine und greifen die Kolonieen ineinander über. Die Kolonieen rufen vollständig den Eindruck von Fadenpilzkolonieen hervor. Das Aussehen ist völlig abweichend von demjenigen der Kolonieen mit Wachstumstypus III bei den übrigen Arten.

Ebenso wie der Kern besitzen auch die ausstrahlenden Fäden oft eine Lufthülle, die mit zunehmendem Alter der Kolonieen immer häufiger wird. 1—3 Oelkörperchen in jeder Zelle scharf hervortretend.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### b) Wachstumserscheinungen in Stichkulturen und bei gleichmäßiger Verteilung in der Gelatine.

Die Kulturen wurden in der üblichen Weise in 10-proz. Würzegelatine hergestellt, die in Mengen von 10 ccm auf Reagenzgläser verteilt worden war. Bei gleichmäßiger Verteilung des Impfmateriales wurde dieses der bei 37° C verflüssigten Gelatine möglichst gleichmäßig beigemengt[1]). Das 4 Tage alte Impfmaterial bestand aus einer Mischung der kräftigen Oberflächenvegetation mit dem Bodensatz nach Entfernung des größten Teiles der Würze.

Im folgenden ist das Ergebnis wiederholter Beobachtungen in Parallelkulturen bei 20° C während eines Monats zusammengefaßt, und zwar für die Stichkulturen. Ueber die Wachstumserscheinungen an der Oberfläche sind keine Angaben gemacht, da diese bei den Riesenkolonieen eine eingehende Erörterung finden werden.

#### Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Wachstum im Stichkanal sehr schwach bis mäßig, bis auf eine Tiefe von etwa 2 cm. Seitliches Wachstum vom Stichkanal aus in die Gelatine sehr gering, zapfen- bis büschelförmig.

No. 6, 17 und 11. Entwickelung im Stichkanal sehr mäßig. Seitliches Wachstum vom Stichkanal aus sehr gering.

No. 5. Sehr starke Entwickelung im Stichkanal. Seitliches Wachstum vom Stichkanal bis zu einer Tiefe von etwa etwa 2,5 cm. In den oberen Partieen Auswüchse haarförmig (Fasern mehr weniger parallel verlaufend), von einem gemeinschaftlichen Punkt ausstrahlend (vergl. Riesenkolonieen). In den unteren Partieen Auswüchse kompakt, zeigen jedoch ebenfalls schon Neigung zu Büschelbildung.

No. 7. Entwickelung im Stichkanal sehr schwach. Seitliches Wachstum vom Stichkanal wie bei No. 3 + 4.

No. 8. Entwickelung im Stichkanal sehr schwach. Die Gelatine verflüssigte schon nach 12 Tagen und war damit jede weitere Beobachtung über Wachstumserscheinungen unterbunden.

#### Zweite Gruppe.

No. 1. Wachstum im Stichkanal mäßig. Seitliches Wachstum vom Stichkanal aus bis zu einer Tiefe von etwa 2 cm in Form von Büscheln (Fasern mehr weniger fächerförmig ausgebreitet), welche von einem Punkte ausstrahlen und in den oberen Partieen der Kultur etwa 2 mm tief in die Gelatine eindringen.

No. 9 und 10. Sehr starke Entwickelung im Stichkanal. Seitliches Wachstum vom Stichkanal bis zu einer Tiefe von 2—3 cm haar- und büschelförmig, von einem Punkte ausstrahlend, nicht so stark wie bei den anderen Kulturen. Verflüssigung am 19. Tage.

No. 2. Starke Entwickelung im Stichkanal bis zu einer Tiefe von etwa 3 ccm. Seitliches Wachstum vom Stichkanal gegenüber No. 1 spärlich, jedoch insbesondere in den oberen Partieen noch ziemlich kräftig, haar- bis büschelförmig.

No. 15. Sehr schwache Entwickelung im Stichkanal. Seitliches Wachstum vom Stichkanal haarförmig, eben erkennbar.

No. 16. Entwickelung im Stichkanal ähnlich wie bei No. 12 (dritte Gruppe). Verflüssigung am 21. Tage.

---

1) Vergl. H. Will, Studien über Proteolyse durch Hefe. I. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1898. Bd. XXI. p. 140.)

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Dritte Gruppe.

No. 12. Sehr starke Entwickelung im Stichkanal. Ziemlich gleichmäßiges seitliches Wachstum vom Stichkanal aus bis zu einer Tiefe von etwa 2 cm. Der Stichkanal dicht mit haarigen Auswüchsen besetzt, an welchen die Büschelform, das Ausstrahlen von einer Stelle deutlich erkennbar ist. Von allen Organismen wächst No. 12 am stärksten und gleichmäßigsten in die Gelatine hinein.

Macht sich schon in den Stichkulturen wieder das Sauerstoffbedürfnis der vorliegenden Organismen, insbesondere derjenigen der ersten Gruppe, durch verhältnismäßig schwache Entwickelung im Stichkanal geltend, so kommt jenes noch viel schärfer in den Kulturen mit gleichmäßiger Verteilung des Impfmateriales in der Gelatine zum Ausdruck. Nach 3 Tagen war allen diesen Kulturen, im Gegensatz zu den mit Hefen (Saccharomyceten) angelegten, gemeinsam, daß in den unteren Partieen der Gelatine keine Entwickelung stattgefunden hatte. Von allen Organismen erstreckte sich nur bei No. 16 die Vermehrung auf eine größere Entfernung von der Gelatineoberfläche, sie blieb jedoch eine mäßige. Bei den übrigen Arten dehnte sich die Wachstumszone innerhalb der Gelatine nicht über eine Tiefe von etwa 1 mm von der Oberfläche aus. Bei No. 12 war der Oberflächenbelag sehr frühzeitig in die Gelatine ungleichmäßig hineingewachsen und die Entwickelung des Organismus innerhalb der oben angedeuteten Wachstumszone etwas stärker als bei den übrigen. Aehnlich verhielt sich No. 15. Im übrigen boten die Kulturen mit gleichmäßiger Verteilung des Impfmateriales in der Gelatine, abgesehen von den Wachstumserscheinungen des Oberflächenbelages, welche die gleichen wie bei den Stichkulturen waren, kein besonderes Interesse.

c) Riesenkolonieen.

Als Nährböden wurden verwendet:

1) 10-proz. Würzegelatine.
2) 10-proz. Kartoffelwassergelatine.
3) 10-proz. Gelbrübenwassergelatine.

Die Würzegelatine war in allen Versuchsreihen in der üblichen Weise aus gehopfter Braunbierwürze von 14,2 Proz. B. hergestellt worden.

Die Kartoffelwassergelatine wurde nach den Angaben von Zikes[1]) in folgender Weise angefertigt. Die von Erde und Schmutz durch Waschen gereinigten Kartoffeln wurden geschält und auf der Reibmaschine zerrieben. Der erhaltene Kartoffelbrei wurde sodann mittels einer Handpresse ausgepreßt, das Filtrat unter Zusatz von Knochenkohle erhitzt und schließlich heiß filtriert, die Farbe des Filtrates war ähnlich derjenigen von Würze mit einem Stich nach Schwarz. Aus dem Kartoffelwasser wurde in der üblichen Weise durch Zusatz von 10 Proz. Gelatine die Kartoffelwassergelatine hergestellt.

Nach verschiedenen Mitteilungen in der Literatur entwickeln sich Torula-Arten und ähnliche Organismen in Pflanzensäften (Krautbrühe u. s. w.) recht gut; sie scheinen also in diesen günstige Entwickelungsbedingungen zu finden. Gelbrübenscheiben werden häufig mit gutem Erfolg zur Kultur von Mikroorganismen angewendet. Diese Erfahrungen legten den Gedanken nahe, außer dem Saft der Kartoffeln

1) Mitteilungen der österr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei in Wien. Heft 11. 1903. p. 15.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch noch die Säfte anderer Pflanzen zur Herstellung von festen Nährböden für die Züchtung von Riesenkolonieen zu benützen. Zunächst habe ich nur den Saft der gelben Rübe (Daucus carota), und zwar, wie schon hier bemerkt sei, mit vorzüglichem Erfolg verwendet.

Die Herstellung der Rübenwassergelatine geschah in folgender Weise. 5 Pfund Rüben wurden nach der Reinigung mit der Reibemaschine zerrieben und der Brei wie bei den Kartoffeln ausgepreßt. Der gelbrote, trübe Saft wurde nach dem Versetzen mit Knochenkohle im Dampftopf erhitzt, wobei das entstehende Koagulum den gelben Farbstoff einschloß. Das klare Filtrat besaß leicht gelblich-braune Farbe.

Aus diesem Rübenwasser wurde in der üblichen Weise durch Zusatz von 10 Proz. Gelatine die Rübenwassergelatine hergestellt. Die Heranzüchtung der Riesenkolonieen erfolgte wie bei den vergleichenden Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe[1]) in kleinen Erlenmeyer-Kölbchen von ca. 100 ccm Inhalt, welche mit Watte verschlossen waren. Die Höhe der Gelatineschichte betrug etwa 2 cm. Bei der photographischen Aufnahme und der anatomischen Untersuchung sprengte man das Glas oberhalb der Gelatine ab.

Nach dem Verteilen der sterilen Gelatine in die Kölbchen wurden diese an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10 Minuten lang im Dampftopf sterilisiert und blieben dann mehrere Tage im Laboratorium stehen. Nachdem sie sich während dieser Zeit als infektionsfrei erwiesen hatten, geschah die Impfung in der üblichen Weise mittels Kapillarröhrchen. Das Aussaatmaterial war in Freudenreich-Kölbchen mit gehopfter Bierwürze bei 25° C während 3—6 Tagen, beim Hauptversuch während 4 Tagen herangezüchtet worden und befand sich in allen Fällen nach dem Entwickelungsgrad und dem mikroskopischen Aussehen in sehr gutem Zustande. Die Aussaat bestand jedesmal aus einer Mischung der Haut- und Bodensatzvegetation. Fast jedesmal wurden je zwei Parallelkulturen angelegt.

Würzegelatine diente in drei, die Kartoffelwassergelatine in zwei und die Rübenwassergelatine in einer Versuchsreihe als Nährboden. Auf Würzegelatine wurde die Züchtung der Riesenkolonieen nach 2-jähriger Pause mit dem gleichen Erfolg wiederholt. Wenn überhaupt Variationen der Wachstumsform auftraten, so waren diese nur sehr gering und bewegten sich innerhalb der Grenzen, wie sie auch bei Parallelkulturen auftreten können.

Die Temperatur, bei welcher die Riesenkolonieen beim ersten und zweiten Versuch auf Würzegelatine und beim ersten Versuch auf Kartoffelwassergelatine wuchsen, betrug mit ganz geringen Schwankungen durchschnittlich 15° C. Der Hauptversuch dagegen, in welchem sämtliche Organismen in je zwei Parallelkulturen vergleichend auf den drei Nährböden sehr eingehend in allen Entwickelungsstadien beobachtet wurden, verlief bei 20° und 14° C.

Wie im folgenden näher ausgeführt werden soll, weicht zwar die Wachstumsform der auf den verschiedenen Nährböden gewachsenen Riesenkolonieen des gleichen Organismus nicht selten voneinander ab; insbesondere weisen diejenigen auf Kartoffelwassergelatine größere Variationen auf. In allen Fällen handelt es sich jedoch nicht um prinzipielle, sondern nur um graduelle Unterschiede. Die Entwickelungsgeschichte und der anatomische Bau sind für diese Erkenntnis von nicht

1) Z. f. d. ges. Brauw. Bd. XXV. 1902. p. 244. VI. **Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.** B. Die Erscheinungsformen der **Riesenkolonieen.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu unterschätzender Bedeutung, ebenso wie auch die Entwickelungsgeschichte manchmal Anhaltspunkte zur Unterscheidung von Kolonieen mit ähnlicher Erscheinungsform gibt.

Ein wesentlicher Unterschied in der Wachstumsform ließ sich bei den benutzten Temperaturen nicht feststellen. Bei niederer Temperatur sind die Kolonieen kompakter, gedrungener und kommen hier einzelne Erscheinungen besser zum Ausdruck.

Gehopfte Bierwürze eignet sich auch für die vorliegenden Organismen ganz vorzüglich zur Züchtung der Riesenkolonieen. Es kommen alle Erscheinungen, welche überhaupt auf den verschiedenen Nährböden auftreten können, zur Geltung, vorausgesetzt, daß man so lange als möglich zuwartet. Bei No. 12, 15 und 16 ist schon am 3. Tag die charakteristische Wachstumsform ausgeprägt. Die Verflüssigung der Würzegelatine unterhalb der Riesenkolonieen erfolgt im allgemeinen spät und bietet gerade die Würzegelatine nach dieser Richtung gewisse Vorteile.

Am üppigsten ist, wie vorauszusehen war, in den meisten Fällen das Wachstum auf der Rübengelatine, jedenfalls ist es ein viel besseres als auf Kartoffelwassergelatine. In den meisten Fällen ist die Wachstumsform eine sehr scharf ausgesprochene.

Die wenig gefärbte, sehr durchsichtige Rübenwassergelatine bietet den großen Vorteil, daß die allmähliche Ausbildung der Unterseite der Riesenkolonieen sehr gut verfolgt werden kann. Einen Nachteil hatte die Kultur insofern, als sie durch einige der Organismen bei höherer Temperatur verhältnismäßig frühzeitig verflüssigt wird; es kommt infolgedessen auch nicht zur Ausbildung der charakteristischen Wachstumsform.

Nach allen Beobachtungen ist die Kartoffelwassergelatine für die beschriebenen Organismen kein sehr günstiger Nährboden. Die Kolonieen bleiben verhältnismäßig klein und bieten auch die Zellen vielfach im Vergleich zu den auf den anderen Nährböden gewachsenen nicht das Bild eines normalen Zustandes; häufig sind abnorm gewachsene Zellen. Sehr störend wirken auf das Bild der Riesenkolonieen die zahlreichen, oft sehr großen (bis zu 3 mm) Kristalle in Prismenform, welche dem Belag eingestreut sind. Zahlreiche auf der Unterseite ausgeschiedene, am Rand der Kolonie deutlich sichtbare Kristalldrusen täuschen traubenartige Anhänge vor. Diese Kristalle bestehen nach der Analyse des Kollegen J. Brand aus phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia. Das Auskristallisieren dieses Salzes bei der Entwickelung der vorliegenden Organismen auf der Kartoffelwassergelatine ist fast allgemein; nur bei No. 15 fehlten Kristalle. Auffällig erscheint die graue oder grauweiße Farbe gegenüber der helleren Färbung der Riesenkolonieen auf den beiden anderen Nährböden.

Trotz alledem möchte ich die Riesenkolonieen auf Kartoffelwassergelatine bei meinen Untersuchungen nicht missen. Im allgemeinen ist ja die Wachstumsform auf den drei verwendeten Nährböden gleich, immerhin ließen gerade die kompakten, insbesondere die bei niederer Temperatur auf Kartoffelwassergelatine gewachsenen Riesenkolonieen, wie beispielsweise diejenige von No. 8 und No. 10, einzelne Charaktere viel schärfer als auf den anderen Nährböden hervortreten und führten daher gerade diese Kolonieen zur leichten Unterscheidung mancher einander im übrigen ähnlicher Arten.

Eine sehr auffällige Erscheinung ist ferner das Erblinden der von dem Zellbelag freien, anfangs glänzenden Gelatineoberfläche bei den Kulturen auf Kartoffelwassergelatine. Die Oberfläche wird entweder

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

milchweiß und sind dann mikroskopisch nur feine Gerinnsel zu erkennen, oder sie erscheint opalartig getrübt und sind dann auf der irisierenden Oberfläche sehr zahlreiche Gruppen von Kristallen sichtbar. Möglicherweise ist der Perlmutterglanz mancher Riesenkolonieen auf der Kartoffelwassergelatine mit durch Kristallausscheidungen bedingt.

No. 3 + 4. Wie bei der Entwickelung auf der Oberfläche von Nährflüssigkeiten herrscht auf festen Nährböden die Tendenz einer raschen Flächenausbreitung vor, welche infolge der stark wachsenden Oberflächenschicht des Belages durch Schiebungen zu deren Faltung in Form von radialer Streifung führt. Durch die gleiche Ursache ist wohl auch die zuweilen in der zentralen Partie der Riesenkolonieen vorhandene „wall“-artige Frhebung veranlaßt. Letztere kommt auch bei anderen Riesenkolonieen vor und ist jedenfalls auf die gleiche Ursache zurückzuführen. Ein prinzipieller Unterschied zwischen den Riesenkolonieen auf den verschiedenen Nährböden besteht nicht; sie zeigen nur graduelle Verschiedenheiten.

Belag verhältnismäßig dünn, flach ausgebreitet. Randlinie bei den Kolonieen auf Würze- und Kartoffelwassergelatine in ihrem Verlauf sehr unregelmäßig, bei ersteren reicher als bei letzteren gebuchtet. Auf Rübenwassergelatine Kolonieen sehr regelmäßig nach allen Richtungen hin entwickelt, infolgedessen auch der Verlauf der Randlinie regelmäßig und nur sehr schwach gebuchtet. Randzone in wechselnder Breite sehr dicht und zart radial gestreift durch dicht nebeneinander verlaufende Faltungen, die in ihrem Verlauf vielfach unterbrochen sind. Sie erscheinen als eine Reihe in die Länge gezogener Erhebungen. Am schärfsten ist diese Streifung auf der Rübenwassergelatine ausgeprägt. Randzone der Kolonieen auf Kartoffelwassergelatine außerdem „gelappt“, d. h., es heben sich einzelne Abschnitte stärker ab. Die trockene, mattglänzende, bei den Kolonieen auf Kartoffelwassergelatine wachsartige zentrale Partie ist auf Würze- und Kartoffelwassergelatine gelblich-weiß gefärbt. Auf letzterer verschwindet die Färbung bei älteren Kulturen wieder und wird grauweiß wie auf Rübenwassergelatine. Mitte der zentralen Partie auf Würze- und Rübenwassergelatine zuweilen „wall“artig erhoben, Oberfläche glatt oder fein gekörnt oder mit flachen Erhebungen. Auf Würze- und Rübenwassergelatine eben nur angedeutet oder nur wenig ausgebildet, kommen diese Erhebungen auf Kartoffelwassergelatine sehr zahlreich und sehr stark zur Entwickelung. Die halbkugelförmigen Erhebungen, welche oft selbst wieder auf größeren, etwas erhöhten Feldern vereinigt sind, erscheinen hier schwach rötlich, überhaupt lichter als ihre Umgebung gefärbt. Auf Rübenwassergelatine sind mit der Lupe auf der zentralen Partie zerstreute farblose, schleimige Tropfen zu erkennen, welche aus einer schleimigen Masse mit zahlreichen eingebetteten Zellen bestehen.

Wachstumsform bei allen Temperaturen gleich. Belag auf Würze- und Rübenwassergelatine zähe, läßt sich nicht mit glatten Rändern durchschneiden; auf Kartoffelwassergelatine ziemlich fest und mit glatten Rändern durchschneidbar.

Keine Anhänge auf der Unterseite des Belages, der sich glatt von der Unterlage ablöst.

Anatomie: Die Riesenkolonie ist, abgesehen von einzelnen auf allen Nährböden vorhandenen langgestreckten wurstförmigen oder selbst mycelartigen Zellen, ausschließlich aus kugelförmigen typischen Torulazellen von verschiedener Größe, meist mit großer Vakuole, zusammengesetzt. Die gestreckten Zellen sind an keine bestimmte Region des

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Belages gebunden. Zellen der gestreiften Randzone in lebhafter Sprossung, schließen Luft zwischen sich ein. Oelkörperchen je nach der Lage und dem Alter der Zellen verschieden groß und in verschiedenem Grade hervortretend; in älteren Zellen sehr groß. Die Zellen färben sich äußerlich mit Methylenblau an.

Die Zellen der Erhebungen (halbkugelförmig, warzig) befanden sich in den älteren Kulturen im Gegensatz zu den Zellen des übrigen Belages in der Umgebung der Erhebungen, welche zum größten Teil abgestorben sind, in sehr guter Verfassung[1]). Meist hängen sie noch in Sproßverbänden zusammen. Charakteristisch sind die zahlreichen Riesenzellen. Allem Anschein nach handelt es sich um eine lokale Wucherung überlebender, gut ernährter Zellen.

No. 6. Kolonieen ohne besonderes Gepräge, auf Würzegelatine bei den höheren Temperaturen insbesondere am Rand flach ausgebreiteter, bei niederen Temperaturen kompakter, mehr oder minder gewölbter, mehrere Millimeter dicker Belag. Randlinie verläuft mit schwachen Einbuchtungen ziemlich regelmäßig. Randpartie ohne Zonenbildung, glatt, mehr oder minder deutlich leicht radial gestreift und durch „strom“-ähnliche[2]) Ausbildung radial geteilt. Zentrale Partie auf der Oberfläche sehr unregelmäßig, schwach gekörnt, feinwarzig oder von zahlreichen flachen Erhebungen bedeckt, zuweilen wie marmoriert, indem dichtere Partieen mit weniger dichten abwechseln. Die dichteren Partieen ragen oft schwach über die Oberfläche hervor. Oberfläche der Kolonieen matt- oder feuchtglänzend. Anfangs gelblich-weiß geht die Färbung bei älteren Kulturen nach bräunlich-weiß und grauweiß über; bei niederer Temperatur schwache aber deutliche Rosafärbung. Aussehen der Kolonieen wachsartig. Belag weich, zähe, läßt sich mit glatten Rändern durchschneiden; löst sich von der Unterlage glatt ab. Keine Auswüchse oder Anhänge auf der Unterseite.

Die Wachstumserscheinungen auf den verschiedenen Nährböden stimmen gut miteinander überein.

Die Riesenkolonie von No. 6 zeigt in mancher Hinsicht eine gewisse Aehnlichkeit mit derjenigen von No. 5 und No. 11. Von No. 5 unterscheidet sie sich durch die glatte Randpartie; außerdem läßt sich der Belag nicht wie dort als hautartig zusammenhängende Masse von der Unterlage abheben. Mit No. 11 stimmt sie dagegen in den Hauptzügen überein, nur ist bei dieser Art eine Randzone mit deutlicher radialer Streifung ausgebildet, außerdem ist die Entwickelungsschnelligkeit ebenso wie bei den Hautbildungen verschieden.

A n a t o m i e: Der Belag besteht, abgesehen von dünnen, langgestreckten und abnormen Zellen, welche insbesondere auf Rübenwassergelatine häufig auftreten, nur aus kugelförmigen und schwach ellipsoidischen typischen T o r u l a - Zellen von verschiedener Größe mit einem sehr kleinen Oelkörperchen. Viele Riesenzellen. Eine regelmäßige Verteilung der Zellen verschiedener Größe auf verschiedene Regionen des Belages ist manchmal nur insoweit angedeutet, als die Zellen der inneren

---

1) Möglicherweise ist auf diese Verhältnisse das Verhalten der Zellen bei T o r u l a c o l l i c u l o s a Hartmann gegenüber den Zuckern zurückzuführen. Es handelt sich hier vielleicht nicht um Rassespaltung, sondern um Zellen von verschiedener Lebensfähigkeit.

2) Siehe H. W i l l, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. B. Die Erscheinungsformen der Riesenkolonieen. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1902. Bd. XXVIII. p. 263.) Die Ursache der „strom“ähnlichen Ausbildung ist jedenfalls eine andere als bei den untergärigen Bierhefen und noch festzustellen.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Partieen ziemlich gleichmäßig, in den Oberflächenschichten dagegen in der Größe variabel sind.

No. 17. Die Riesenkolonie entbehrt zwar eines ausgesprochenen Wachstumscharakters, immerhin treten gewisse Erscheinungen regelmäßig auf, welche charakteristisch für diese Art sind. Beziehungen zwischen den Hautbildungen und der Riesenkolonie machen sich auch hier wieder geltend. No. 17 gehört zu der Gruppe von Arten mit rascher Hautbildung, bei welcher die Faltungen allerdings schwach sind. Dementsprechend treten auch an den Riesenkolonieen wieder Faltungen auf, wenn auch nicht in dem Umfang wie bei No. 3 + 4. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß die vorliegende typische Torula-Form, deren Zellen denjenigen von No. 3 + 4 morphologisch sehr nahe stehen, gleichwohl deutlich eine andere Wachstumsform als diese zeigen, eine Verschiedenheit, die übrigens auch in den Hautbildungen zur Geltung kommt.

Die Riesenkolonieen auf Würzegelatine einerseits und auf Kartoffelwasser- und Rübenwassergelatine andererseits zeigen scheinbar eine voneinander abweichende Wachstumsform. Wie bei No. 3 + 4 handelt es sich aber hier auch nicht um prinzipielle, sondern nur um graduelle Unterschiede und kommen nur wie dort manche Charaktere auf der Kartoffel- und Rübenwassergelatine, insbesondere auf ersterer, schärfer zum Ausdruck, welche auf Würzegelatine nur angedeutet sind.

Flacher, schwach gewölbter Belag, dessen zentrale Partie auf Rübenwassergelatine in der Mitte, ähnlich wie bei No. 3 + 4, stark und unvermittelt wallartig hervorgewölbt ist. Randlinie, insbesonders auf Rübenwassergelatine, sehr regelmäßig, ohne tiefere Buchtung. Randzone scharf abgesetzt, mehr oder minder deutlich gestreift. Auf Würzegelatine eben angedeutet, kommt die durch Faltungen hervorgerufene Streifung auf Kartoffelwassergelatine mit kompakteren Kolonieen noch mehr zum Ausdruck, wobei einzelne Partieen stärker hervortreten, während auf Würze- und Rübenwassergelatine die Oberfläche der Randzone glatt ist. Randzone bei stärker Ausbildung der Streifung kreidig bestäubt oder milchweiß. Farbe der matt- oder feuchtglänzenden zentralen Partie gelblichweiß, gelblichbräunlich bis gelblichrötlich oder gelblichgrau; auf Rübenwassergelatine feuchtglänzend weiß. Auf Würzegelatine einzelne der radial verlaufenden Partieen der Oberfläche stärker entwickelt: „Sternbildung“. Farbe des „Sterns“ zart rötlichgelb. Im übrigen Oberfläche feinhöckerig bis grobkörnig; auf Kartoffelwassergelatine zahlreiche flache Erhebungen. Kolonieen auf Kartoffelwassergelatine wachsartig trocken. Belag weich, leicht mit glatten Rändern durchschneidbar; löst sich leicht, wenn auch nicht als zusammenhängende Masse von der Unterlage ab. Keine Auswüchse auf der Unterseite.

Anatomie: Typische kugelförmige bis ellipsoidische Torula-Zellen mit ziemlich großen Oelkörperchen, außerdem in den Zellen der oberflächlichen Schichten ein oder mehrere große Oeltropfen (Osmiumsäure). Sporadisch dünne, wurstförmige Zellen.

No. 11. Gehört zwar ebenfalls zur Gruppe der Arten mit rascher Hautbildung und stehen die Zellen denjenigen von No. 3 + 4 sehr nahe, jedoch kommen gekrösartige Faltungen der Haut nicht mehr zu stande.

Die Wachstumsform der Riesenkolonieen gleicht im allgemeinen auf allen Nährböden derjenigen von No. 3 + 4 mit der Modifikation, daß alle dort hervortretenden Erscheinungen (Streifung u. s. w.) auf einer tieferen Stufe stehen und, ausgenommen die Kolonieen auf Rübenwassergelatine, die Wallbildung fehlt. Belag weich, läßt sich mit glatten Rändern durchschneiden. Im übrigen wie bei No. 3 + 4.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anatomie. Typische kugelförmige bis schwachellipsoidische Torulazellen von verschiedener Größe. Vereinzelt Sproßverbände dünner wurstförmiger Zellen, die an keine bestimmte Region des Oberflächenbelages gebunden sind, auch nicht in die Gelatine hineinwachsen.

No. 5. Obwohl die Riesenkolonieen im allgemeinen kein besonderes Gepräge aufweisen, tritt doch an dem flachen Belag auf allen Nährböden und bei allen Temperaturen in der Einsenkung der zentralen Partie eine charakteristische Erscheinung auf, welche die Riesenkolonieen nicht unschwer von denjenigen anderer Arten unterscheiden läßt. Wahrscheinlich infolge rascher Erweichung der Gelatine unterhalb der Kolonie kommt dann im weiteren Verlauf der Entwickelung durch stärkeres lokales Wachstum an der Peripherie der Einsenkung bei den Riesenkolonieen auf Würzegelatine „Wall"bildung zu stande, auf Rübenwassergelatine sind einzelne keilförmige Partieen, die vom Rand bis zur Einsenkung der zentralen Partie zurückgreifen, in radiärer Richtung gefaltet und außerdem gekräuselt. Der „Wall" ist scharf von der Randpartie abgesetzt und stellt eine Falte des Belages dar, die teilweise einen Hohlraum in sich birgt. Randlinie verläuft ziemlich regelmäßig, nur schwach gebuchtet. Die glatte Oberfläche der Randpartie mit radialer Streifung, die später stärker hervortritt und eine gewisse Aehnlichkeit mit echter „Strom"bildung annimmt, indem sich einzelne Partieen über ihre Umgebung erheben. Randpartie mit scharf ausgeprägter Zonenbildung, ist bei älteren Kolonieen tief in die Gelatine hineingewachsen und erscheinen hier traubige, Rhizoiden gleiche Anhänge. Zentrale, eingesenkte Partie und Wall auf der Oberfläche fein granuliert. Farbe anfangs mattglänzend, milchweiß, später gelblichweiß bis gelblichbraun.

Belag läßt sich im Gegensatz zu den übrigen Arten als zähe, hautartige, fest zusammenhängende Masse, die mit glatten Rändern durchschneidbar ist, von der Unterlage glatt abheben; insbesondere die Randpartie zeigt diesen zähen Zusammenhalt, der offenbar durch eine Verschleimung der Zellhaut, die in Nährflüssigkeiten durch das Fadenziehen der Absätze in die Erscheinung tritt, verursacht ist.

Anatomie: Die oberen Schichten der zentralen Partie bestehen fast ausschließlich aus kugelförmigen Zellen, wie typische Torula-Zellen von sehr verschiedener Größe. Dazwischen finden sich sehr kleine ellipsoidische und einzelne langgestreckt-wurstförmige oder keulenförmige und an den Enden etwas zugespitzte Zellen in langen Ketten. Die Spitze selbst ist abgestumpft und sitzen die Zellen einander mit relativ breiter Basis auf. In den untersten Schichten des Belages nehmen die langgestreckt-wurstförmigen Zellen an Zahl mehr und mehr zu und herrschen in den der Kolonie zunächstliegenden Gelatineschichten vor. Die Kolonie wächst also im Gegensatz zu den übrigen Arten in die Gelatine hinein und zwar hauptsächlich mit Sproßverbänden der gestreckten Zellen, die niemals über die Oberfläche der Riesenkolonie hervorwachsen und infolgedessen auch keine charakteristische Formerscheinungen hervorrufen. Die Gelatine erscheint deshalb unmittelbar unter der Kolonie bis zu einer Tiefe von 2—3 mm trüb.

In der stromartig ausgebildeten Randpartie treten langgestreckte Zellelemente nicht in größerer Zahl als in dem übrigen Oberflächenbelag hervor; keineswegs haben sie auf die Formgestaltung der Randpartie einen Einfluß und ist deren Ausbildung nicht auf echte „Strom"bildung zurückzuführen, sondern auf die gleichen Erscheinungen wie bei No. 3 + 4.

In den Zellen des Oberflächenbelages 1 bis mehrere Oelkörperchen,

Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

die in den Zellen der unteren Schichten nicht so stark hervortreten; dagegen beherrschen hier in den Vakuolen befindliche Kristalloide (häufig stäbchenförmig) das Bild. Oelkörperchen treten in den in die Gelatine hineingewachsenen Zellen auch auf Zusatz von Osmiumsäure nicht hervor.

No. 7. Charakteristisch für die Riesenkolonie dieser Art ist nicht sowohl die Wachstumsform, als vielmehr ihre Färbung und ihre Beschaffenheit. Anfangs rötlichbraun, geht die Farbe allmählich in ein tiefes Lederbraun über. Außerdem ist der Belag zähe, wie sehr dickflüssiger Leim oder wie Kleber; läßt sich glatt durchschneiden und verteilt sich in Wasser sehr schwer. Im übrigen ist der Belag ganz charakterlos, flach gewölbt, meist jedoch vorherrschend in die Höhe (insbesondere bei niederen Temperaturen, auf Rübenwassergelatine) entwickelt. Unter allen Umständen erreicht er eine beträchtliche Dicke (bis 3 mm). Randlinie meist ziemlich regelmäßig verlaufend, nur schwach gebuchtet. Eine anfangs sichtbare schwache radiale Streifung der Randpartie verschwindet mit zunehmendem Alter der Kolonieen ebenso wieder wie eine Zonenbildung; zuweilen stromartige Ausbildung der auf der Oberfläche glatten Randpartie. Oberfläche der mehr oder minder stark gewölbten zentralen Partie in sehr verschiedener Weise ausgebildet: glatt, ähnlich wie die Schale einer Schildkröte durch zahlreiche flache Erhebungen in Felder geteilt, marmoriert, von gröberen Faltungen oder nur von warzigen Erhebungen, von stromartigen Bildungen wie bei No. 17 bedeckt u. s. w. Während die glatte Oberfläche schleimigglänzend erscheint, sind die Erhebungen jeglicher Art trocken, matt.

Der Belag löst sich ziemlich glatt in zusammenhängenden Stücken, jedoch nicht hautartig von der Unterlage ab; er besitzt keine Anhänge auf der Unterseite, ist also nicht in die Gelatine hineingewachsen.

Anatomie: In allen Schichten des Belages rundliche Zellen mit sehr viel Oeltröpfchen. Nicht selten abnorm gewachsene langgestreckte, vielfach gewundene Zellen. Netzbildung infolge der verschleimten Zellmembran. Die meisten Zellen tot. Die warzigen, trockneren Partieen, sowie die Erhebungen der Oberfläche überhaupt, bestehen auch hier wieder aus kräftigen, großen, kugelförmigen Zellen; sehr viele Riesenzellen. An den schleimig-glänzenden Stellen Haut der Zellen verschleimt, undeutlich.

No. 8. Ein prinzipieller Unterschied besteht zwischen der Wachstumsform der Kolonieen auf den verschiedenen Nährböden nicht; am schärfsten kommt jene auf Kartoffelwassergelatine zum Ausdruck, während die Kolonieen auf Würzegelatine und insbesondere auf Rübenwassergelatine, welch letztere sehr bald verflüssigt, nahezu ganz charakterlos sind. Die Kolonieen gleichen in mancher Hinsicht denjenigen von No. 7. Farbe lederartig tief dunkelbraun, matt-glänzend. Auf Kartoffelwassergelatine ist die Oberfläche des bis zu 2 mm starken, gewölbten Belages dicht gedrängt mit warzigen Erhebungen bedeckt, deren größter Teil klein bleibt, einzelne erreichen eine Höhe von über 1 mm. Jedenfalls sind die warzigen Erhebungen stärker entwickelt als bei No. 7 und unterscheiden sich die Riesenkolonieen von No. 8 hierdurch wesentlich von ähnlichen bei No. 7. Die steil abfallende, sehr schmale Randzone mit stromähnlicher Ausbildung erscheint mehr oder weniger deutlich radial gestreift, auf der Oberfläche glatt. Randlinie verläuft regelmäßig. Graduell verschieden sind die Kolonieen auf Würze- und Rübenwassergelatine von denjenigen auf Kartoffelwassergelatine insofern, als hier die Oberfläche höchstens gekörnt erscheint. Durch die anfangs matte Färbung unterscheiden sie sich von No. 7.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Belag löst sich glatt als Ganzes von der Unterlage ab. Keine Auswüchse auf der Unterseite in die Gelatine hinein. Konsistenz des Belages je nach dem Nährboden und dem Alter verschieden; auf Kartoffelwassergelatine hart und bröckelig, ist er auf Würzegelatine wachsartig und hängt ähnlich wie bei No. 7 ziemlich fest zusammen, läßt sich schwer in Wasser verteilen.

In älteren Kulturen Belag weicher, läßt sich jedoch noch mit glatten Rändern durchschneiden. Auf Rübenwassergelatine Kolonieen anfangs glasig, glänzend; bilden später eine ziemlich feste schleimige Masse.

Anatomie: Zellen von sehr verschiedener Größe und Form, vorherrschend kugelförmige. Sehr viele Riesenzellen. Auf der Unterseite der Kolonieen herrschte eine Tendenz zur Streckung vor und fanden sich dementsprechend öfters gestreckt-ellipsoidische, ja selbst wurstförmige Zellen in Sproßverbänden vor. Die Zellen der inneren Partieen des Belages gleichmäßiger und durchschnittlich kleiner; diejenigen der äußeren Schichten ungleichmäßig und in der Form variabel. Sehr viele Riesenzellen. Die Mehrzahl der Zellen in älteren Kolonien tot. In den warzigen Erhebungen der Oberfläche Zellen lebend mit feinschaumigem oder reich vakuolisiertem, schwach lichtbrechendem Plasma; sehr viele Riesenzellen.

Tote und hungernde Zellen mit vielen und großen Fetttropfen (Osmiumsäure).

## Zweite Gruppe.

No. 1. Die Riesenkolonieen auf den verschiedenen Nährböden stimmen im allgemeinen sehr gut überein und zeigen auch noch große Aehnlichkeit mit denjenigen der ersten Gruppe, insbesondere von No. 5. Auf Kartoffelwassergelatine erhält die Kolonie jedoch noch eine weitere Ausbildung, die sie von den Kolonieen der ersten Gruppe scheidet und sie der zweiten Gruppe zuweist.

Flacher Belag, in der Mitte etwas eingesenkt oder wallartig erhoben. Randlinie fast regelmäßig verlaufend, nur schwach gebuchtet. Besitzt große Aehnlichkeit mit gleichalterigen Kolonieen von No. 5. Der Hauptunterschied in früherem Alter besteht darin, daß die Farbe der Kolonieen von No. 5 einen Stich nach hellgelblichbraun aufweist und die Oberfläche matt, nur etwas feucht, diejenige von No. 1 jedoch milchweiß, glänzend ist. Auf Kartoffelwassergelatine geht, wie so oft, die Farbe später nach grauweiß über; die Kolonieen erhalten außerdem Perlmutterglanz und später Perlmutterfarbe, indem die Oberfläche in allen Farben schillert. Jedenfalls hängt diese Erscheinung mit dem Nährboden zusammen, da dieser selbst auf der freien Oberfläche irisierend ist.

Die Oberfläche der Kolonieen ist radial gestreift. Durch stärkere Entwickelung einzelner Kreisausschnitte, die auch schwach gefaltet sein können, und deren Erhebung über ihre Umgebung entstehen stromähnliche Bildungen. Im übrigen ist die Oberfläche glatt oder höchstens fein gekörnt oder höckerig. Auf Kartoffelwassergelatine kommt es jedoch nach etwa 1 Monat an verschiedenen Stellen der Oberfläche zunächst zu „krater“-artigen Erhebungen, welche später in gekröseartige Faltungen oder Kräußelungen übergehen. Die Riesenkolonie von No. 1 erhält damit ein neues Formelement, welches sie von No. 5. von den Riesenkolonieen der ersten Gruppe überhaupt scheidet. Weder auf Würze- noch auf Rübenwassergelatine kommt es zur Ausbildung dieser Kräuselungen. Sie gehen, wie schon mit der Lupe erkennbar, aus den warzen-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

förmigen Erhebungen hervor, die damit eine weitere Ausbildung erfahren.

Belag weich, jedoch zähe, etwas schleimig, läßt sich glatt durchschneiden und von der Unterlage, wenn auch nicht in zusammenhängenden Stücken, leicht ablösen. Keine rhizoidengleichen Anhänge, jedoch Gelatine unterhalb des Belages bis zu einer Tiefe von 2—3 mm, nach dem Rand der Kolonie zu abnehmend, durch hineingewachsene Zellen gleichmäßig trübe.

Anatomie: An der Oberfläche der zentralen Partie ausschließlich oder nahezu ausschließlich kugelförmige typische Torula-Zellen mit einem großen, scharf hervortretenden Oelkörperchen. Auch die inneren Schichten bestehen aus solchen Zellen, jedoch finden sich hier auch schon einzelne langgestreckte, wurstförmige Zellen. Die äußerste Randpartie besteht fast ausschließlich aus solchen Zellen. Diese sind, im Gegensatz zu den gleichen Elementen der Riesenkolonieen der unter- und obergärigen Bierhefen, nicht von wesentlichem Einfluß auf die Formgestaltung der Kolonieen.

Auf der Unterseite der zentralen Partie herrschen ebenfalls langgestreckte Zellen vor, die in weitverzweigten Sproßverbänden in die Gelatine gleichmäßig hineinwachsen. Zu rhizoidengleichen Anhängen vereinigen sie sich nicht.

Die Entwickelung der langgestreckten Zellen ist also auch hier, wie bei No. 5, nicht an die unmittelbare Berührung mit der Luft gebunden; sie wenden sich im Gegenteil von der Luft ab. Sie haben offenbar die Aufgabe, die Nahrung für den Oberflächenbelag aus entfernteren Gebieten der Unterlage herbeizuschaffen.

Die Verteilung der verschiedenen Zellformen in den Flüssigkeitskulturen ist also die gleiche wie in den Riesenkolonieen und wird jene erst durch diese verständlich.

Die langgestreckten Zellen innerhalb der Gelatine sind dicht durch gleichartige Zellen verzweigt. Die Erzeugung von rundlichen Tochterzellen (wirtelförmig) an den langgestreckten Zellen ist eine geringe. Die Zellen sind ungemein kräftig, oft sehr breit und derb; vielfach sehen sie den Zellen der Rhizoiden an den Riesenkolonieen von untergärigen Bierhefen zum Verwechseln ähnlich.

Die gekröseartigen Faltungen auf der Oberfläche bestehen aus gemischten Zellformen und zwar finden sich auch hier wieder sehr viele Riesenzellen vor.

No. 9. Die Riesenkolonieen auch der vorliegenden Art weisen noch sehr große Aehnlichkeit mit denjenigen der Organismen der ersten Gruppe auf. Obwohl sie keine besondere Wachstumsform zur Schau tragen, unterscheiden sie sich doch recht gut von ähnlich geformten. Den Höhepunkt der Ausbildung erreichen die Kolonieen wieder auf Kartoffelwassergelatine.

Belag sehr flach und sehr dünn, am Rand durchscheinend. Randlinie meist ziemlich regelmäßig und nur schwach gebuchtet. Randpartie glatt, radial gestreift oder fein gefaltet. Einzelne Kreisausschnitte etwas stärker entwickelt. Zentrale Partie auf der Oberfläche wie marmoriert, feingekörnt, mit flachen, unregelmäßig umgrenzten Erhebungen, grobwarzig oder leicht gekräuselt, in keinem Falle jedoch in dem Grade wie bei No. 1. Farbe des Belages anfangs milchweiß, matt-glänzend, später gelblich-weiß bis gelblich-bräunlich; auf Kartoffelwassergelatine mit leichtem Perlmutterglanz, Farbe grauweiß. Beschaffenheit wachsartig, zähe; läßt

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

sich mit glatten Rändern durchschneiden. Löst sich leicht von der Unterlage ab, Anhänge auf der Unterseite der Kolonie fehlen. Unterhalb des Belages Gelatine bis zu einer Tiefe von durchschnittlich 1—$1^1/_2$ mm ungleichmäßig getrübt.

Auf Rübenwassergelatine entwickeln die Riesenkolonieen schwach aromatischen Geruch.

Anatomie: Die äußersten Schichten der Oberfläche setzen sich ausschließlich oder fast ausschließlich aus gedrungenen Zellelementen, kugelförmigen und ellipsoidischen Torula-Zellen mit einem kleinen Oelkörperchen, unter welchen sich häufig Riesenzellen finden, zusammen. Weiter nach innen herrschen oft sehr langgestreckte Zellen vor und sind in den untersten Schichten ausschließlich vorhanden. In der Randpartie Zellformen sehr gemischt. In den Erhebungen sind zwar Riesenzellen vorhanden, jedoch nur in verhältnismäßig geringer Zahl. Zellen der zentralen Partie in älteren Kolonieen zum größten Teil tot. In den Kräuselungen der Oberfläche Sproßverbände gestreckter Zellen sehr häufig.

Die sehr langgestreckten Zellen der untersten Schichten der Riesenkolonieen wachsen dicht aneinander geschmiegt mit weit ausgebreiteten, reichverzweigten Sproßverbänden ungleichmäßig in die Gelatine hinein.

Die Unterseite der Riesenkolonieen ist nicht glatt, zur Bildung von rhizoidengleichen Anhängen komnt es aber bei der vorliegenden Art noch nicht. In den langgestreckten Zellen fehlen Oelkörperchen.

Also auch hier wieder die Erscheinung, daß die Sproßverbände gestreckter Zellen wesentlich innerhalb der Gelatine in den tieferen Schichten zur Entwickelung kommen und auf die Formgestaltung des Belages keinen Einfluß ausüben.

No. 10. Die ersten Entwickelungsstadien der Kolonieen zeigen kein besonderes Gepräge und gleichen denjenigen von No. 9 vollständig. Später geht jedoch die Ausgestaltung der Wachstumsform einen noch viel größeren Schritt als bei No 1 und 9 weiter und erhält die Kolonie eine so charakteristische Form, daß sie sich weit über die Kolonieen der Arten No. 1 und 9 der zweiten Gruppe und noch viel mehr über diejenigen der ersten Gruppe erhebt. Jedenfalls ist die Formerscheinung der Riesenkolonieen eine viel ausgeprägtere als diejenige der Hautbildungen auf Nährflüssigkeiten. Den Höhepunkt der Ausbildung erreichen auch hier wieder die Riesenkolonieen auf Kartoffelwassergelatine; gut charakterisiert erscheint noch die Form auf Würzegelatine bei niederen Temperaturen, sehr schwach, oder überhaupt nicht, bei höheren Temperaturen, sowie auf Rübenwassergelatine, da hier, wie so oft, verhältnismäßig rasch Verflüssigung eintritt.

Randpartie in wechselnder Ausdehnung flach ausgebreitet, ähnlich wie bei No. 9, Oberfläche glatt, schwach radial gestreift. Randlinie ziemlich regelmäßig, höchstens schwach gebuchtet. Die zentrale Partie in wechselnder Ausdehnung und Höhe in sehr charakteristischer Weise grob gekräuselt. Kräuselung von der glatten Randpartie nicht scharf abgesetzt. Auf Kartoffelwassergelatine, bei welcher sich die Kräuselung aus frühzeitig vorhandenen grobwarzigen Erhebungen entwickelt, erfolgt zuweilen noch ein weiterer Schritt in der Ausbildung der Wachstumsform dadurch, daß auf der Randpartie radial verlaufende Faltungen ähnlich wie bei No. 3 und 4, insbesondere auf Rübenwassergelatine, aber in noch viel schärfer ausgeprägter Weise (höckerig gestreift) entstehen. Einzelne Partieen des Randes können auch frei von Faltungen sein. Die Zellen des Belages sind hier tot oder befinden sich wenigstens in schlechter Verfassung.

(Fortsetzung folgt.)

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

# Weitere Beobachtungen über saccharophobe Bakterien.

Von Dr. **E. Kohn,**
Assistent an der Deutschen Technischen Hochschule zu Prag.

Nach Vorschlag von Prof. Dr. F. Czapek bezeichne ich als saccharophobe Bakterien solche Mikroben, welche im Gegensatze zu den gewöhnlichen saprophytischen Formen, den saccharophilen Mikroben, nur in sehr verdünnten zuckerhaltigen Nährlösungen Wachstum zeigen und bereits in relativ wenig konzentrierten organischen Substraten nicht mehr gedeihen.

Durch die bekannten Untersuchungen von Winogradsky ist die Erscheinung der Saccharophobie zuerst bei den Nitrifikationsmikroben aufgefunden worden. In meiner Arbeit „Zur Biologie der Wasserbakterien“ [1]) habe ich jedoch eine Reihe von Spaltpilzen reiner natürlicher Wässer als mehr oder minder ausgeprägt saccharophobe Bakterien charakterisieren können. Meine Absicht ist es, den dort mitgeteilten Tatsachen noch einige weitergehende Resultate anzufügen.

Gelegentliche Beobachtungen hatten mich bereits früher (vergl. l. c. p. 720) zu der Vermutung geführt, daß nicht alle saccharophoben Bakterien gegen höhere Nährstoffkonzentrationen absolut refraktär seien, sondern daß unter Umständen eine allmähliche Gewöhnung solcher Mikroben an höhere Konzentrationen stattfinden könne. So konnte ich sehen, daß Micrococcus aquatilis auf einer Nährlösung anfänglich erst nach 8 Tagen sichtbar wuchs, nach dreimonatlicher Umzüchtung auf demselben Substrate jedoch bereits nach 3 Tagen. Ich kann nun über systematische Versuchsreihen berichten, welche die Adaption saccharophober Bakterien an stärker konzentrierte Nährlösungen hinreichend prägnant illustrieren. Auch die Rückkehr solcher adaptierter Stämme zur Saccharophobie nach längerdauernder Kultur in verdünnter Nährlösung ließ sich feststellen. Endlich war noch die Ursache der schädlichen Wirkung, welche konzentrierte Zuckerlösungen auf saccharophobe Bakterien ausüben, näher zu bestimmen; dabei war speziell zu prüfen, inwiefern hier osmotische Reizwirkungen eine Rolle spielen.

Daß osmotische Druckschwanknngen energische, bis zum Tode der Zelle führende Reizerfolge ausüben können, ist durch eine Reihe von Erfahrungen hinlänglich bekannt [2]).

Von den in meinen früheren Untersuchungen über Wasserbakterien isolierten und studierten Formen wählte ich für die hier zu verfolgenden Zwecke aus:

| | |
|---|---|
| Micrococcus aquatilis, | Sarcina alba, |
| Bacillus Pasteuri, | Sarcina flava, |
| Bacillus margaritaceus, | Rote Torula. |

Zum Vergleiche: Bacillus hydrophilus fuscus.

Alle diese Mikroben wurden vor Beginn der Versuche in einer verdünnten Nährlösung mehrere Wochen hindurch kultiviert. Die Lösung enthielt 1 Millimol Traubenzucker (= 0,198 g) und 0,5 Millimol Ammoniumphosphat (= 0,066 g) auf 100 ccm Wasser. Ueber die Herstellungs-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 690.

2) Vergl. die Literaturangaben bei Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. 1905. p. 900.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weise der Lösungen, die Beobachtungsweise und die Kontrolle wolle man meine erste Arbeit einsehen. Alle Versuche standen im dunklen Raum. Mittlere Versuchstemperatur: 16° C.

Das Ueberimpfen wurde in allen Fällen immer dann vorgenommen, wenn die betreffende Kultur durch eine leichte aber unverkennbare Trübung Wachstum des Mikroben kundgab. Hierbei war ein sehr genauer Vergleich mit Kontrollröhrchen (sterile Nährlösung von gleicher Zusammensetzung, destilliertes Wasser) nötig. Die Zeit von einer Ueberimpfung zur nächsten wird im folgenden als „Impfperiode" bezeichnet. Bemerkt sei, daß die meisten Versuchsreihen wiederholt angestellt wurden und daß deren Resultate übereinstimmten.

### 1. Micrococcus aquatilis.

Bei der Ueberimpfung von Kulturen, die anfänglich einer Millimol-Traubenzuckerlösung angepaßt waren, auf eine Centimol-Traubenzuckerlösung (mit entsprechendem Ammoniumphosphatgehalt) wurde insofern eine Entwickelungsverzögerung erreicht, als durch drei Impfperioden hindurch der eben sichtbare Wachstumsbeginn nicht mehr am 2. Tage, sondern erst am 4. Tage beobachtet werden konnte. Sodann trat eine allmähliche Anpassung ein, indem durch vier weitere Impfperioden eine Trübung der Nährlösung nach 3 Tagen erschien und von da ab immer schon 2 Tage nach erfolgter Ueberimpfung wie in der Ausgangslösung.

Ueberimpfung von Millimol-Kulturen auf $\frac{n}{75}$-oder 2,64-proz. Glukoselösung: 7 Impfperioden hindurch Wachstumsbeginn am 4. Tage, sodann 5 Impfperioden hindurch am 3. Tage, von da ab bereits am 2. Tage.

Ueberimpfung von Millimol-Kulturen auf $\frac{n}{60}$-oder 3,3-proz. Glukoselösung: 8 Impfperioden hindurch Wachstumsbeginn nach 4 Tagen, in den folgenden Impfperioden nach 3 Tagen. Nach 16 solchen Ueberimpfungen war keine weitere Abkürzung dieser Zeit erfolgt.

Uebertragung von einer Millimol-Kultur auf $\frac{n}{50}$- oder 3,96-proz. Zuckerlösung: Der Mikrobe erschien 4 Impfperioden hindurch nach 5 Tagen, hierauf in zwei Perioden nach 4 Tagen, später nach 3 Tagen, ohne daß innerhalb 16 Impfperiodon sich dieser Zustand geändert hätte.

Abimpfungen einer Millimol-Kultur auf $\frac{n}{35}$- oder 5,66-proz. Zuckerlösung: Der Mikrobe erschien 2 Impfperioden hindurch erst nach 6 Tagen, 4 weitere Impfperioden hindurch nach 5 Tagen, die drei nächsten hindurch nach 4 Tagen, von da ab stets nach 3 Tagen; keine weitere Aenderung innerhalb 16 Impfperioden.

Ueberimpfung einer Millimol-Kultur auf $\frac{n}{25}$- oder 7,92-proz. Traubenzuckerlösung: Nach der ersten Uebertragung Wachstumsbeginn erst nach 9 Tagen; 2 weitere Impfperioden hindurch nach 6 Tagen; die 14 folgenden Perioden nach 5 Tagen. Hier ist demnach die Entwickelungshemmung bereits recht stark.

Ueberimpfung von einer Millimolkultur auf $\frac{n}{20}$ oder 9,95-proz. Traubenzucker: Auch nach 14 Tagen keine Spur von Wachstum. Daß aber die Bakterien trotzdem noch lebten, zeigte eine Rückimpfung auf Millimol-Zuckerlösung; nach 5 Tagen war eine deutliche Trübung eingetreten. Es war die Möglichkeit gegeben, daß ein auf konzentrierter Lösung lange

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit kultivierter Stamm auch $\frac{n}{20}$-Lösung noch vertragen könnte. Um dies zu prüfen, impfte ich von einer Kultur $\frac{n}{25}$-Lösung und in der 11. Impfperiode auf $\frac{n}{20}$-Zuckerlösung ab. Es war aber auch da kein Wachstum zu beobachten. Die gefundenen Wachstumshemmungen konnten eine doppelte Ursache haben. Einmal war an den gesteigerten osmotischen Druck als hemmendes Moment zu denken, es war aber auch eine spezielle Giftwirkung der Lösung nicht auszuschließen. Zur näheren Prüfung dieser Frage stellte ich mir zunächst eine der $\frac{n}{35}$-Glukoselösung und eine der $\frac{n}{20}$-Glukoselösung isotonische Kochsalzlösung her und fügte diesen Lösungen auf je 100 ccm 1 Millimol Traubenzucker und 0,5 Millimol Ammoniumphosphat zu.

Einer $\frac{n}{35}$-Glukoselösung entspricht eine $\frac{n}{50}$- oder 1,17-proz. NaCl-Lösung; einer $\frac{n}{20}$-Traubenzuckerlösung ist $\frac{n}{28}$- oder 2,08-proz. NaCl-Lösung isosmotisch. Nun wurde von Millimol-Kulturen auf die Kochsalzlösungen abgeimpft. Auf der $\frac{n}{50}$-Lösung war am 5. Tage Wachstum eingetreten ähnlich wie oben im Versuche mit $\frac{n}{35}$-Zuckerlösung.

Auf der $\frac{n}{28}$-Lösung trat keine Trübung selbst nach 2 Wochen auf. Die Grenze scheint daher bei NaCl in derselben osmotischen Höhe zu liegen wie bei Zucker. Daraus schließe ich, daß bei der Wachstumshemmung in konzentrierteren Zuckerlösungen in erster Linie osmotische Einflüsse eine Rolle spielen und anderweitige Einwirkungen relativ ohne Bedeutung sind.

Ich schritt sodann zur Untersuchung der Rückgewöhnung von Stämmen, welche lange Zeit hindurch auf konzentrierter Lösung gezüchtet waren, auf verdünnte Lösungen. Die erste Versuchsreihe bestand darin, daß von einer $\frac{1}{25}$-Mol-Kultur in 13. Impfperiode (Dauer der Impfperiode 5 Tage) auf $\frac{n}{1000}$-, $\frac{n}{100}$-, $\frac{n}{50}$-Lösungen abgeimpft wurde. In der Millimol-Lösung trat zunächst Trübung erst am 8. Tage ein. Doch schon die zweite Impfperiode war nur 6 Tage, die zwei nächsten waren 4 Tage, die 5. Periode nur mehr 3 Tage.

In der Centimol-Lösung dauerte die erste Impfperiode 4 Tage, die zweite Periode schon 3 Tage. In der $\frac{n}{50}$-Lösung erschien gleich am 3. Tage die Trübung.

Die Rückgewöhnung an verdünntere Lösungen erfolgte mithin rascher als die Anpassung an konzentriertere Lösungen. Beachtenswert ist, daß auch hier größere Sprünge in der Konzentrationsänderung weniger gut vertragen werden als allmähliche Uebergänge.

## 2. Bacillus Pasteurii.

Dieser Harnstoff vergärende Mikrobe wird häufig als nicht auf gewöhnlicher Nährgelatine wachsend beschrieben. Ich beobachtete bereits früher, daß derselbe in 0,3-proz. Traubenzuckerlösung gut gedeiht, und es gelang mir auch, ihn durch allmähliche Konzentrationssteigerung des Nährsubstrates schließlich auf meiner normalen Nährgelatine zum Wachs-

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

tum zu bringen. Er wurde zunächst auf Harnstoffgelatine gehalten und in den folgenden Ueberimpfungen auf immer harnstoffärmeres und zuckerreicheres Substrat gebracht. Hier berichte ich über die Accomodation des Bac. Pasteurii an höhere Zuckerkonzentrationen.

Eine in Millimol-Traubenzuckerlösung fortgezüchtete Kultur, welche hier Impfperioden von 2-tägiger Dauer aufwies, wurde auf Centimol-Traubenzuckerlösung überimpft. Hier dauerten die ersten vier Impfperioden 6 Tage, alle folgenden 5 Tage.

Ueberimpfung eines Millimol-Traubenzuckerstammes auf $\frac{n}{75}$- oder 2,64-proz. Glukose. Die ersten 5 Impfperioden währten 9 Tage, die zwei nächsten 7 Tage, die folgenden 5 Tage. Nach Ueberimpfung von Millimol-Kulturen in $\frac{n}{60}$- oder 3,3-proz. Lösung konnte auch nach 14 Tagen kein Wachstum festgestellt werden. Die Rückimpfung auf Millimol-Lösung zeigte Wachstum in 3 Tagen; die Bakterien waren demnach nicht tiefer geschädigt worden.

Nun wurde von Stämmen in $\frac{n}{75}$-Lösung auf $\frac{n}{60}$-Lösung abgeimpft. Diesmal zeigte sich Wachstum auf $\frac{n}{60}$-Glukose, und zwar nach 8 Tagen durch 2 Impfperioden, nach 6 Tagen in den folgenden Perioden. Die $\frac{n}{75}$-Stämme waren, wie weitere Versuche zeigten, noch weiter adaptionsfähig und gingen nach Ueberimpfen auf $\frac{n}{25}$- oder 7,92-proz. Glukose nach 10 Tagen deutlich auf.

Auch hier entsprechen die gefundenen Wachstumsgrenzwerte den Wachstumsgrenzen in isosmotischer Lösung von NaCl.

Einer $\frac{n}{25}$-Glukoselösung entspricht eine $\frac{n}{36}$- oder 1,62-proz. NaCl-Lösung.

Ein Pasteurii-Stamm von $\frac{n}{75}$-Glukose in der 9. Impfperiode wurde auf $\frac{n}{36}$-NaCl$+\frac{n}{1000}$-Glukose überimpft. Nach 9 Tagen war deutliches Wachstum zu konstatieren.

Es folgten Versuche über Rückgewöhnung an verdünntere Zuckerlösung. Von Stämmen, die an $\frac{n}{25}$-Lösung accommodiert waren, wurde in der zweiten (10-tägigen) Impfperiode auf $\frac{n}{1000}$-, $\frac{n}{100}$- und $\frac{n}{60}$-Lösung abgeimpft. Auf Millimol-Glukose währten die aufeinanderfolgenden Impfperioden 8, 6, 3 und schließlich dauernd 2 Tage. Auf der Centimollösung währte die erste Periode 6, die zweite und dritte 3, die folgenden 2 Tage. Auf $\frac{n}{60}$-Lösung dauerten die zwei ersten Impfperioden 5, die beiden folgenden 4, die drei nächsten 3 und die weiteren 2 Tage. Die Rückaccommodation geschah somit sehr leicht.

### 3. Sarcina alba.

Als von Millimol-Stämmen auf Centimol- und $\frac{n}{75}$-Glukose abgeimpft wurde, wuchsen die Kulturen in 2 Tagen; der Mikrobe ist somit viel leichter anpassungsfähig als Micrococccus aquatilis und Bac.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pasteurii. Auf $\frac{n}{60}$-Lösung übertragen, war nur die erste Impfperiode etwas länger (3 Tage); die nächste dauerte bereits nur 2 Tage.

Ueberimpfung von Millimol-Kulturen auf $\frac{n}{35}$- oder 5,66-proz. Glukose: die ersten 6 Impfperioden von 3-tägiger Dauer, die folgenden 2 Tage lang.

Ueberimpfung von Millimol-Kulturen in $\frac{n}{25}$- oder 7,92-proz. Glukose: Die beiden ersten Impfperioden dauerten 5 Tage, die fünf weiteren 3 Tage, alle folgenden 2 Tage.

Uebertragung von Millimol-Lösung auf $\frac{n}{20}$- oder 9,95-proz. Lösung: Vier 8-tägige Impfperioden, die folgenden 5-tägig; keine weitere Abkürzung. Als hingegen ein der $\frac{n}{25}$-Lösung accommodierter Stamm (8 Impfperioden alt) auf $\frac{n}{20}$-Lösung abgeimpft wurde, dauerten die ersten 6 Impfperioden 5 Tage, alle folgenden aber nur 3 Tage.

Ueberimpfung auf eine Lösung von $\frac{n}{28}$-NaCl + $\frac{n}{1000}$-Glukose ergab Aufgehen der Trübung nach 10 Tagen, entsprechend dem Erfolge bei der isosmotischen $\frac{n}{20}$-Glukoselösung.

Rückgewöhnung findet bei unserer Sarcine leicht statt. Zunächst wurde von einem $\frac{n}{20}$-Glukosestamm, in der 8. Impfperiode stehend, auf Millimol-Lösung abgeimpft: Wachstum nach 4 Tagen, in der folgenden Periode nach 3 Tagen.

Abimpfung von einem $\frac{n}{25}$-Glukosestamm der 7. Impfperiode auf Millimol-Lösung: Die drei ersten Impfperioden 3-tägig, die folgenden 2-tägig.

Abimpfung von einem $\frac{n}{20}$-Glukosestamm der 7. Impfperiode auf Centimol- und $\frac{n}{60}$-Glukose: Auf Centimol-Lösung dauerten die zwei ersten Impfperioden 3 Tage, alle folgenden 2 Tage, auf $\frac{n}{60}$-Lösung nur die erste Impfperiode 3 Tage, die zweite schon 2 Tage.

### 4. Sarcina flava.

Millimol-Kulturen dieser Sarcine auf Centimol- und $\frac{n}{75}$-Glukose überimpft zeigten keine Verzögerung der Entwickelung, sie wuchsen binnen 2 Tagen wie in $\frac{n}{1000}$-Lösung.

Auf $\frac{n}{60}$-Glukose übertragen erschien der Mikrobe in den ersten beiden Impfperioden nach 5 Tagen, in den zwei nächsten nach 3 Tagen, von da ab immer nach 2 Tagen. In $\frac{n}{50}$-Lösung dauerten die beiden ersten Impfperioden 5 Tage, alle folgenden 3 Tage. In $\frac{n}{35}$-Glukose erschien die gelbe Sarcine in den vier ersten Impfperioden nach 5 Tagen, in der fünften nach 4 Tagen, von da ab binnen 3 Tagen.

In $\frac{n}{25}$-Glukose währte die erste Periode 7 Tage, die zwei folgenden 6 Tage, die nächste 5 Tage, die 5.—9. Impfperiode 4 Tage, die folgenden 3 Tage.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In $\frac{n}{20}$-Glukose nach 14 Tagen noch kein Wachstum. Rückimpfung nach dieser Zeit auf Millimol-Lösung zeigte Wachstum nach 5 Tagen. Als ein Stamm von $\frac{n}{25}$-Glukose in der 8. Impfperiode auf $\frac{n}{20}$-Glukose übertragen wurde, war die Lösung nach 9 Tagen deutlich von den Sarcinen getrübt.

Auch hier setzen hauptsächlich osmotische Wirkungen dem Wachstum in konzentrierten Zuckerlösungen die Grenze.

Als ich von Millimol-Kulturen in $\frac{n}{36}$- und $\frac{n}{28}$-NaCl (+ $\frac{n}{1000}$-Glukose) abimpfte, konstatierte ich in der ersten Lösung Wachstum nach 7 Tagen, in der zweiten auch nach 14 Tagen kein Wachstum. Die NaCl-Lösungen waren $\frac{n}{25}$- bezw. $\frac{n}{20}$-Glukose isosmotisch.

Rückgewöhnungsversuche: Von einer $\frac{n}{20}$-Glukosekultur in der 2. Impfperiode (9 d) wurde auf Millimol-Lösung abgeimpft: Wachstum nach 5 Tagen, dann in den beiden folgenden Perioden nach 3 Tagen, später nach 2 Tagen.

Ueberimpfung von $\frac{n}{20}$-Glukose auf $\frac{n}{100}$- und $\frac{n}{50}$-Lösung ergab in beiden Fällen Wachstum in 8 Tagen; die 2. Impfperiode währte 5 Tage, die vier nächsten 3 Tage. Auf Centimol-Lösung trat sodann eine weitere Abkürzung auf 2 Tage ein, während auf $\frac{n}{50}$-Glukose die Sarcine stets 3 Tage nach vollzogener Impfung erschien.

### 5. Rote Torula.

Unsere rote Torula zeigte erst bei Ueberimpfung auf $\frac{n}{50}$-Glukose oder 3,96-proz. Traubenzucker eine leichte Wachstumsretardation, indem die wahrnehmbare Trübung in den zwei ersten Impfperioden erst nach 3 Tagen auftrat. Später war immer nach 2 Tagen mit bloßem Auge erkenntliches Wachstum vorhanden. Derselbe Effekt äußerte sich beim Uebertragen aus Millimol-Lösung in $\frac{n}{35}$-Glukose.

In $\frac{n}{25}$-Glukose dauerten die aufeinanderfolgenden Impfperioden in den ersten sechs 3 Tage, von da ab 2 Tage.

In $\frac{n}{20}$-Glukose erschien Trübung nach 10 Tagen, in den drei nächsten Perioden nach 5 Tagen, von da ab in 3 Tagen.

In $\frac{n}{15}$-Glukose jedoch war binnen 14 Tagen keine Trübung aufgetreten, auch dann nicht, wenn als Impfmaterial ein Stamm von $\frac{n}{20}$-Lösung in der 7. Impfperiode angewendet wurde.

Hingegen wuchs ein Stamm „$\frac{n}{35}$-Glukose, 5. Impfperiode“ auf $\frac{n}{20}$-Glukose schon nach 8 Tagen erkennbar, während Millimol-Stämme 10 Tage brauchten.

Auf einer Lösung $\frac{n}{36}$-NaCl + $\frac{n}{1000}$-Glukose (isotonisch $\frac{n}{25}$-Glukose) erschien die Torula nach 5 Tagen. Kein Wachstum war hingegen konstatierbar auf der Lösung $\frac{n}{28}$-NaCl + $\frac{n}{1000}$-Glukose (isotonisch $\frac{n}{20}$-Glukose).



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rückgewöhnung. Von einer Kultur auf $\frac{n}{20}$-Glukose in 7. Impfperiode wurde auf Millimol-, Centimol- und $\frac{n}{60}$-Traubenzuckerlösung abgeimpft. Die Impfperioden währten aufeinanderfolgend

auf Millimol-Lösung 5, 3, 3, 2, 2 etc. Tage,
„ Centimol-Lösung 3, 3, 2, 2, 2 etc. „
„ $\frac{n}{60}$-Lösung 3, 3, 3, 3, 2 etc. „

Unsere Torula war mithin in jeder Beziehung etwas weniger saccharophob als die vier erststudierten Mikroben.

## 6. Bacillus margaritaceus.

Dieser Bacillus zeigte, an Millimol-Kulturen adaptiert, gleichfalls erst auf $\frac{n}{60}$- oder 3,3-proz. Traubenzucker eine leichte Wachstumshemmung, indem die beiden ersten Impfperioden 3 Tage währten. Diese leichte Retardation währte bei Uebertragung auf $\frac{n}{35}$-Lösung 6 Perioden.

In $\frac{n}{25}$-Glukose währten die Impfperioden 6, 5, 4, 3, 2, 2 Tage. In $\frac{n}{20}$-Lösung war die Impfung nicht nur von Millimolkulturen aus erfolglos, sondern auch nach Anwendung eines Stammes aus $\frac{n}{50}$-Lösung in 5. Impfperiode. Auch in der dieser Zuckerlösung isosmotischen Lösung von Natriumchlorid (+ $\frac{n}{1000}$-Zucker) gedieh der Mikrobe nicht.

Die Rückgewöhnung erfolgte hier recht schnell.

Als von einem $\frac{n}{25}$-Stamm in der 6. Impfperiode auf Millimol-Glukose überimpft wurde, war nur in den beiden ersten Impfperioden gegenüber adaptierten Millimol-Glukosekulturen eine Wachstumsverlangsamung (5 und 3 Tage) zu beobachten. Ueberimpfung von $\frac{n}{50}$-Glukose (4. Impfperiode) auf Millimol-Lösung: 1. und 2. Impfperiode je 3 Tage. Ueberimpfung von $\frac{n}{100}$-Lösung auf $\frac{n}{1000}$: keine Wachstumsverlangsamung.

## 7. Bacillus hydrophilus fuscus.

Dieser relativ anspruchsvolle Mikrobe wurde zum Vergleiche mit den voranstehenden saccharophoben Formen studiert.

Er wächst gleichfalls noch in Millimol-Glukose. Seine Wachstumsgeschwindigkeit wird bei Uebertragen auf Centimol-, $\frac{n}{75}$- oder $\frac{n}{50}$-Glukose nicht alteriert. Erst beim Ueberimpfen auf $\frac{n}{35}$-Glukose (5,66 Proz.) zeigten die an Millimol-Glukose akklimatisierten Stämme eine leichte Wachstumshemmung: erste Impfperiode 5 Tage, die zweite 4, die dritte 3 Tage, von da ab 2 Tage.

Ueberimpfung von Millimol-Stämmen auf $\frac{n}{25}$-Glukose. Die aufeinanderfolgenden Impfperioden dauerten 8, 5, 3, 3 etc. Tage.

Auf $\frac{n}{20}$-Lösung währten die Impfperioden 12, 5, 5, 5 etc. Tage.

Ueberimpfung von $\frac{n}{25}$-Glukose (5. Impfperiode) auf $\frac{n}{20}$-Lösung: Periode I 4 Tage, die folgenden 3 Tage.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ueberimpfung auf $\frac{n}{36}$-NaCl + $\frac{n}{1000}$-Glukose: Wachstum nach 10 Tagen. Auf $\frac{n}{28}$-NaCl kein Wachstum. Erstere Lösung ist der $\frac{n}{25}$-Glukose, die letztere der $\frac{n}{20}$-Glukose isosmotisch.

Rückgewöhnung von Stämmen, die an $\frac{n}{20}$-Glukose gewöhnt waren. Auf Millimol-Lösung dauerte Impfperiode I 10 Tage, Periode II und III 5 Tage, Periode IV und V 3 Tage, die folgenden 2 Tage.

Ueberimpfung auf Centimol-Glukose: Periode I 5 Tage, alle folgenden 2 Tage. Ueberimpfung eines an $\frac{n}{25}$-Glukose akklimatisierten Stammes (6. Impfperiode) auf $\frac{n}{60}$-Glukose: Periode I 3 Tage, alle folgenden 2 Tage.

## Ergebnisse.

Die bisher studierten saccharophoben Wasserbakterien lassen sich an relativ hohe Zuckerkonzentrationen anpassen. Diese Accommodation geschieht bei den einzelnen Formen nicht gleich rasch und leicht. Die Zuckergrenze, welche ein Wachstum der saccharophoben Bakterien überhaupt nicht mehr gestattet, scheint ihre Hemmungswirkung hauptsächlich durch ihren osmotischen Wert zu entfalten.

Die Rückgewöhnung der an höhere Zuckerkonzentrationen akklimatisierten Stämme an verdünnte Lösungen geht noch rascher vor sich, als die Anpassung an höhere konzentrierte Lösungen erfolgt war.

Ich erachte es als meine Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. F. Czapek für die mir erteilten Ratschläge während der Arbeit meinen herzlichsten Dank hiermit auszusprechen.

---

*Nachdruck verboten.*

# Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule Graz. Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer.]

## II. Pseudomonas dermatogenes. III. Pseudomonas myxogenes. IV. Micrococcus dermatogenes.

Nebst einigen Bemerkungen über Pseudomonas aeruginosa und fluorescens.]

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Mit 1 Tafel und 3 Kurven.

(Fortsetzung.)

### Wachstum auf flüssigen Nährsubstraten.

In neutraler Traubenzucker-Nährbouillon gedeiht Pseudomonas dermatogenes gut. Bei Zimmertemperatur ist nach 24 Stunden eine allgemeine Trübung des Nährsubstrates zu beobachten. Es entsteht bald eine weißgraue, beim Schütteln in Flocken zerfallende Kahmhaut von mäßiger Dicke. Der gebildete krümelige Bodensatz ist fast rein weiß. Auch die Bouillon ist gelb gefärbt, ohne daß Fluoreszenzerscheinungen zu Tage treten. Dessenungeachtet wird der

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fluoreszierende Farbstoff in großer Menge gebildet, denn Zusatz von einigen Tropfen Natronlauge bringt augenblicklich die herrlichste Fluoreszenz hervor. Beim Wachstum auf diesem Nährsubstrat wird von unserer Bakterienart kräftig Säure gebildet, welche eben das Auftreten von Fluoreszenz verhindert. Die bei der Zucht in Nährbouillon gut beweglichen Stäbchen bieten hinsichtlich ihrer Form und Färbbarkeit nichts Auffallendes. Es besteht auch hier keine Neigung zur Ketten- oder Fadenbildung. Aeltere Bouillonkulturen haben einen höchst widerlichen, faden Geruch, der dem von Pyocyaneus-Kulturen nicht unähnlich ist.

Sterilisierte Milch ist für Pseudomonas dermatogenes ein guter Nährboden, trotzdem nach 24 Stunden bei 22° C darin durch unsere Bakterienart noch keine augenfälligen Veränderungen hervorgebracht werden. Erst nach 48 Stunden beginnt die Ausfällung des Kaseins in feinflockiger Form. Später ballt es sich zusammen und die darüber stehende leicht getrübte Flüssigkeit bekommt eine Spur Gelbfärbung. Nun findet eine langsame Lösung des Kaseins statt, die bei einer Milchkultur von 20—25 ccm in ungefähr 20 Tagen vollendet ist. Noch später tritt die Farbstoffbildung in den Vordergrund und es beginnt die fast klar gewordene Kulturflüssigkeit schwach gelbgrün zu fluoreszieren. Alte Milchkulturen haben einen ekelhaften Geruch nach faulenden Knochen.

Auch in Petruschkys Lackmusmolke ist das Wachstum gut. Nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur bildet sich eine Kahmhaut, die deutlich infolge des zugesetzten Azolithmin blau gefärbt ist, also alkalisch reagiert. Die tieferen Flüssigkeitspartieen haben nach dieser Zeit ihre Farbe nicht geändert. Später bildet sich ein ganz beträchtlicher Bodensatz. Dann findet man eine deutlich alkalische Reaktion des Nährsubstrates. Eine nach 4-tägigem Wachstum mit $^1/_{10}$-Normalflüssigkeiten vorgenommene Titration ergab eine Gesamtmenge von 4,5 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali.

Die mit 6-tägigen, bei 22° C gehaltenen Lackmusmolkekulturen unseres Bakteriums ausgeführten Titrationen ergaben folgende Mittelwerte:

Wenn die Probe vor dem Kochen stark angesäuert wurde, konnte eine Menge von 7 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali nachgewiesen werden. Wurde die Probe vor der Titration längere Zeit gekocht, bekam man nur mehr 2,8 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali.

Beim Kochen entweicht sehr viel Ammoniak, das sich sowohl durch seinen Geruch als auch durch Salzsäure ohne weiteres nachweisen läßt. Ein Teil des gebildeten Alkali ist anscheinend gebunden, wahrscheinlich an Säuren, die aus der Spaltung der Laktose hervorgehen, denn diese Zuckerart wird gewiß, wenn auch nur gering ohne jede Gasbildung von unserem Mikroben vergoren. Wie aus dem Späteren hervorgeht, werden beispielsweise bei der Zucht in Asparaginlösungen mit 1,05 Proz. Milchzuckergehalt innerhalb von 6 Tagen in 100 ccm dieser Nährlösung rund 0,1 g Zucker verbraucht. Die Menge des gebildeten, beim Kochen nicht entweichenden Alkali entsprach auch hier 2,9 Proz. $^1/_{10}$ normal. Es herrscht hier also eine sehr schöne Uebereinstimmung im Milchzuckerverbrauch resp. in der Menge des gebundenen Alkali, wenn in Asparaginlösungen oder Molke gezüchtet wird.

In Peptonwasser ist das Wachstum unserer Bakterienart nicht üppig. Nach 24 Stunden bei 22° C bemerkt man nur eine schwache, allgemeine Trübung der Flüssigkeit, die besonders in den der Luft zu-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gekehrten Flüssigkeitspartieen auffällt. Außerdem beobachtet man eine Spur eines krümeligen weißen Niederschlages. Eine Kahmhaut ist nicht nachzuweisen. Nach 72 Stunden ist die Trübung stärker geworden und die Flüssigkeit ist von einem dünnen, beim Schütteln in Flocken zerfallenden Deckhäutchen bedeckt. Nach mehrtägiger Zucht ist eine spurweise Indolbildung nachweisbar.

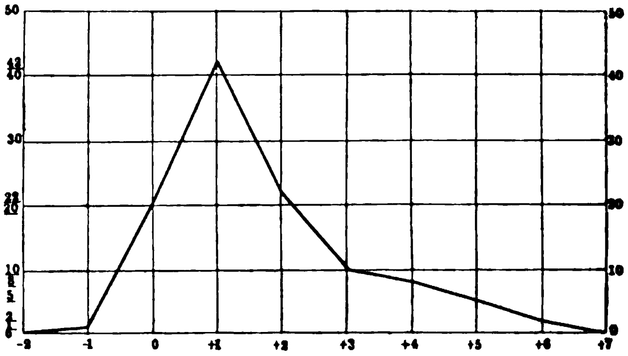
### Wachstum auf verschieden saurer und alkalischer Gelatine und Bouillon.

Die Technik dieser Versuche wurde schon in der ersten Mitteilung zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres mitgeteilt[1]). Am besten gedeiht Pseudomonas dermatogenes auf schwach alkalischer Nährgelatine. Nach 24 Stunden bei 22° C ist in dem Röhrchen mit 1 Proz. Normalalkali (NaOH) der größte Verflüssigungstrichter zu bemerken. Auch in den Röhrchen mit neutralem Inhalt und bis 4 Proz. Normalalkali ist eine geringe Verflüssigung zu beobachten. Fluoreszenzerscheinungen sind in den Röhrchen mit 1 bis 3 Proz. Normalnatronlauge festzustellen. Sehr instruktiv ist diese Versuchsreihe nach einem 10-tägigen Wachstum der Kulturen bei Zimmertemperatur. Man sieht Verflüssigung des Inhalts in den Röhrchen mit 1 Proz. Normalessigsäure, neutral und 1—4 Proz. Normalnatronlauge. Am stärksten ist die Peptonisierung im Röhrchen, dessen Inhalt einen Gehalt von 1 Proz. Normalalkali aufweist. Im Röhrchen mit neutraler und 3 Proz. Normalalkali hältiger Nährgelatine ist sie annähernd gleich groß. Etwas stärker bei 2-proz. Normalnatronlauge. In dem Röhrchen mit 1 Proz. Essigsäure ist sie gering, aber bedeutender als bei 4 Proz. Normalalkali. Bei höherem Säuregehalt findet kein Wachstum mehr statt. Auch bei einem größeren Gehalt an Normalalkali vermag unsere Bakterienart nur spärlich zu gedeihen. Nur bei 5 und 6 Proz. Normalalkali findet noch sehr spärliches Wachstum statt, das sich in einer minimalen Verflüssigung und Fluoreszenz äußert. Darüber hinaus bleiben die verimpften Röhrchen steril. Eine dicke Deckenbildung auf den verflüssigten Massen gewahrt man nur bei schwach saurer bis leicht alkalischer (2 Proz. Normal-NaOH) Reaktion der Gelatine. Bei einem Gehalt von 3 Proz. Normallauge ist die gebildete Kahmhaut dünn und zart und fehlt bei höherem Alkaligehalt vollständig. Die ersten Spuren von Fluoreszenzerscheinungen zeigen sich nach 10-tägigem Wachstum bei Zimmertemperatur in den Röhrchen mit 1 Proz. Normalalkali, obwohl hier das Maximum des Wachstums festzustellen ist und auch am besten das Bakteriofluorescein gebildet wird. Fügt man nämlich den verflüssigten Massen dieses Röhrchens noch Alkali hinzu, so bekommt man prachtvolle Fluoreszenz, die intensiver ist, als bei allen anderen Röhrchen. In voller Pracht entfalten sich die Fluoreszenzerscheinungen erst bei einem Alkaligehalt von mindestens 3—4 Proz. Normal. Aber selbst ein Zusatz von 10 Proz. festem KOH oder NaOH verhindert sie nicht. In den Röhrchen mit 4, 5 und 6 Proz. Normalalkali, in welch letzteren noch eben wahrnehmbares Wachstum statthat, beobachtet man nur geringe Fluoreszenz, die aber hier auf mangelhafte Farbstoffbildung zurückzuführen ist. Ein geringer Grad von Essigsäure (1 Proz. Normal) behindert die Farbstoffbildung nicht sonderlich, und Zusatz von Lauge bedingt sofortiges Auftreten von Fluoreszenz.

1) Fuhrmann, F., Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Diese Zeitschr. Bd. XVI. 1906. p. 316.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Genauere Einblicke in die Wachstumsverhältnisse bei verschiedener Reaktion des Nährsubstrates gewähren Versuchsreihen mit verschieden saurer, alkalischer und streng neutraler Traubenzucker-Nährbouillon von der bereits in der ersten Mitteilung (l. c.) angegebenen Zusammensetzung. Auch hier änderte sich bei diesen Versuchen nichts in der Versuchstechnik, nur wurde die Zählung der in bestimmten Zeiten bei gleicher verimpfter Menge entstandenen Bakterien nicht nur mittels des Gelatineplattenverfahrens ausgeführt, sondern auch direkte Zählungen der Bakterien in der Zählkammer vorgenommen, die im wesentlichen die mit dem Plattenguß erhaltenen Resultate bestätigten. Dazu wurde eine Modifikation der Zählkammer nach Gabritschewsky-Predtetschensky[1]) verwendet, die Prof. Reinitzer angab und von der Firma Zeiss ausgeführt wurde. Sie besteht darin, daß die großen Quadrate und Rechtecke durch eine eingeritzte Mittellinie halbiert wurden, wodurch an Stelle der 25 großen Quadrate 100 kleinere treten, die in ihrer Größe 4 kleinen Quadraten gleichkommen. Außerdem wird die Anzahl der Rechtecke verdoppelt, von denen jedes 2 kleinen Quadraten entspricht. Diese nochmalige Teilung des eben angeführten Objektzählnetzes bewährte sich für die Bakterienzählung ganz ausgezeichnet. Es wurde nun die sehr gut durchgeschüttelte Bouillonkultur zu gleichen Teilen mit einer Methylenblau- oder Fuchsinlösung von 1 : 500 in Wasser, das 10 Proz. Aethylalkohol enthielt, gemischt. Zur Abmessung der Kulturmenge und Farbflotte dienten Pipetten. Gezählt wurde nun mit dem Objektiv No. 9 von Reichert oder F von Zeiss unter Anwendung des Okulars No. III. Der Zusatz von Alkohol und Methylenblau oder Fuchsin erwies sich deshalb als zweckmäßig, da einmal die beweglichen Bakterien in kurzer Zeit bewegungslos wurden und andererseits die gefärbten Zellen leichter zu zählen sind. Es wurde nun durch Auszählen einer größeren Anzahl von kleinen Quadraten eine Mittelzahl erhalten, die durch Multiplikation mit 4 die Durchschnittszahl der Bakterien in einem großen Quadrat ergab. Diese Zahlen wurden nun in Millimetern auf die Ordinate eines Koordinatensystems aufgetragen und die Menge der zugesetzten Normalflüssigkeit auf der Abscissenachse in gleichen Abständen notiert. So entsteht durch Verbinden der die Wachstumsgröße bei verschieden saurer, neutraler und alkalischer Nährbouillon angebenden Marken eine Kurve, die uns sehr gut über das Wachstum bei verschiedenem Säure- und Alkaligehalt orientiert. Auch die nebenstehend




Kurve I.

1) Vergl. Carl Zeiss, Spezialkatalog über Blutkörperchen-Zählapparate (Hämocytometer). p. 9. No. 144.

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

wiedergegebene Kurve wurde nach diesen Prinzipien konstruiert und bezieht sich auf ein 5-tägiges Wachstum von Pseudomonas dermatogenes bei 22° C.

0 entspricht dem Röhrchen mit neutraler Bouillon, die mit positivem Vorzeichen versehenen Zahlen geben die Menge der zugesetzten Normal-NaOH-Lösung in Prozenten an, die Zahlen mit dem negativen Vorzeichen die Quantität an Normal-$C_2H_4O_2$-Lösung in Prozenten.

Aus Kurve I ist ohne weiteres zu entnehmen, daß das beste Wachstum in dem Röhrchen zu beobachten ist, dessen Inhalt 1 Proz. Normal-NaOH enthält. Bei neutraler Reaktion der Nährbouillon oder einem Gehalt von 2 Proz. Normal-NaOH ist das Wachstum etwa halb so groß, bei 3 Proz. Normal-NaOH beträgt es kaum mehr den vierten Teil, wie beim Alkaleszenzoptimum. Dann findet von 3 Proz. bis zu 7 Proz. Normal-NaOH ein gleichmäßiger Abfall im Wachstum statt und bei 7 Proz. Normal-NaOH hört es gänzlich auf. Unsere Bakterienart wächst außerdem noch bei einem Säuregehalt von 1 Proz. Normal-$C_2H_4O_2$, jedoch nur kümmerlich. Bei 2 Proz. Normalessigsäure ist das Wachstum gleich 0. Bezüglich der hier auftretenden Erscheinungen der Fluoreszenz und der Deckenbildung verweise ich auf die früher gemachten Mitteilungen über diese Verhältnisse bei der Zucht von Pseudomonas dermatogenes auf verschieden saurer und alkalischer Nährgelatine. Die dort mitgeteilten Ergebnisse können ohne weiteres hier gelten, weshalb ich von einer unnötigen Wiederholung absehe.

## Wachstum auf anorganischer Nährlösung mit besonderen N- und C-Quellen.

Als anorganische Nährlösung wurde die von A. Meyer[1]) angegebene mineralische Nährlösung II („M-Nährlösung") von folgender Zusammensetzung verwendet:

$KH_2PO_4$ 1 g, $CaCl_2$ 0,1 g, $MgSO_4 + 7\,H_2O$ 0,3 g, NaCl 0,1 g in 1000 destilliertem Wasser.

Als besondere Stickstoffquellen kamen zur Verwendung Asparagin, Kaliumnitrat und Chlorammonium, als Kohlenstoffquellen in erster Linie Dextrose, Saccharose und Laktose und nebenbei Glycerin. Wo die ursprüngliche Reaktion des fertigen Nährsubstrates sauer war, wurde mit einer Natriumkarbonatlösung genau neutralisiert.

Da es für die Unterscheidung ziemlich ähnlicher Bakterienspecies gewiß von Wert ist, auch die Menge des gespaltenen und eventuell verarbeiteten Kohlehydrates zu kennen, wurde sowohl der Zuckergehalt der fertigen Nährlösung nach den üblichen gewichtsanalytischen Methoden als auch der von den 6-tägigen bei 22° C gehaltenen Kulturen bestimmt. Der Umstand, daß sowohl in Asparaginlösungen ohne Kohlehydrate beim Wachstum unseres Bakteriums keine reduzierenden Substanzen gebildet werden, wie auch in den mit Chlorammonium versetzten Nährlösungen, vereinfachte wesentlich diese Arbeit. Da Pseudomonas dermatogenes in den Kulturen mit $KNO_3$ Nitrit bildet, mußte dieses vor der Zuckerbestimmung entfernt werden. Dies war in einfacher Weise durch Kochen des angesäuerten Kulturfiltrates mit Asparagin zu erreichen.

1) Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Weiter war es interessant zu erfahren, welche Mengen von Säure oder Alkali unsere Bakterienart bei ihrem Wachstum zu bilden vermag. Die bezüglichen Angaben beziehen sich auf den Säure- oder Alkaligehalt nach 6-tägigem Wachstum bei 22° C. Die Titrationen wurden mit $^1/_{10}$-Normalsalzsäure und $^1/_{10}$-Normalnatronlauge unter Anwendung von Azolithmin als Indikator ausgeführt.

Um brauchbare Vergleichszahlen zu erhalten, wurden sämtliche Kulturen unter gleichen äußeren Bedingungen gehalten. Zu den Impfungen wurde eine Aufschwemmung des Kulturrasens einer 24-stündigen Agarkultur in sterilem Brunnenwasser verwendet. Es wurden gleiche Mengen Nährlösung in Erlenmeyer-Kolben gefüllt und diese immer mit der gleichen Platinöse von der Aufschwemmung beimpft, so daß eine möglichst gleiche Bakterienquantität eingeführt wurde.

Die allgemeinen Wachstumserscheinungen auf den genannten Nährsubstraten sind in Tabelle I, die Ergebnisse der Zuckerbestimmungen und Titrationen in Tabelle II zusammengestellt.

(Siehe Tabelle I. p. 459.)

Aus der Tabelle I ist ohne weiteres zu entnehmen, daß unser Bakterium auch mit einfachen Stickstoffquellen vorlieb nimmt. Die angeführte mineralische Nährlösung mit 1 Proz. Asparagingehalt ist für Pseudomonas dermatogenes ein sehr guter Nährboden, dessen Güte durch zugesetzte Dextrose noch wesentlich erhöht wird. In letzterem Falle kommt es aber niemals zu Fluoreszenzerscheinungen, die bei Anwendung von Asparagin allein ohne besondere Kohlenstoffquelle schon in kürzester Zeit zu sehen sind. Zugesetzte Saccharose oder Laktose verbessert das Wachstum nur wenig, letztere fast gar nicht. Dextrose verhindert aber nicht die Bildung des Bakterienfluoresceins, da ein Zusatz von Ammoniak oder Lauge sofort schöne Fluoreszenz auslöst. 3—4-tägige Kulturen unseres Bakteriums in Asparaginlösung mit Saccharose oder Laktose fluoreszieren prächtig hellgrün. Es kommt hier nur zu sehr zarten Kahmhautbildungen. Für das mehr oder weniger günstige Wachstum auf der mineralischen Nährlösung mit 1 Proz. Asparagin und Rohrzucker ist die Reaktion von großer Bedeutung, wie No. III und IV zeigen. Nur bei neutraler Reaktion tritt gelbgrüne Fluoreszenz auf, während bei schwach saurer Reaktion nur schwache, blaue Fluoreszenz zu beobachten ist. Seine Erklärung findet dies wohl ungezwungen darin, daß beim Sterilisieren des, wenn auch nur spurweise sauren, rohrzuckerhaltigen Nährsubstrates ein Teil der Saccharose invertiert wird und der Invertzucker anscheinend leichter gespalten werden kann als die Saccharose, die ja in neutraler Lösung unverändert das Sterilisieren überdauert. In letzterem Falle reduzieren Proben des gekochten Nährsubstrates Fehlingsche Lösung nicht, im ersteren Falle dagegen merklich, wenn auch nur unbedeutend.

Wird $KNO_3$ als Stickstoffquelle verwendet, unter Zugabe von Dextrose als Kohlenstoffquelle, ist das Wachstum bedeutend verringert. Wird an Stelle der Dextrose Saccharose zugesetzt, bemerkt man eine etwas stärkere Trübung und einen beträchtlicheren Bodensatz. Mit Laktose und Glycerin als C-Quellen ist das Wachstum nur äußerst spärlich.

Dient Chlorammonium als N-Quelle und Dextrose als C-Quelle, findet bei schwach saurer Reaktion nur sehr geringes Wachstum statt, während es bei neutraler Reaktion etwas besser ist. Zugesetzter Rohrzucker verbessert etwas das Wachstum; Chlorammonium und Lak-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

| No. | M-Nähr-lösung | Asparagin | Kaliumnitrat | Chlor-ammonium | Dextrose | Saccharose | Laktose | Glycerin | Reak-tion der sterilen Lösung | Wachstums-erscheinungen nach 48 Stunden bei 22° C | Wachstums-erscheinungen nach 8 Tagen bei 22° C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ccm | g | g | g | g | g | g | g | | | |
| I | 100 | 1 | — | — | — | — | — | — | neutral | Gutes Wachstum, allgem. Trübung, etwas Bodensatz, noch keine Kahmhaut | Allgemeine Trübung, schmutzig-weißer Bodensatz, dünne Kahmhaut. Erste Fluoreszenzerscheinungen n. 96-stünd. Wachstum in den oberen Partieen. Nach 5 Tagen allgemein |
| II | 100 | 1 | — | — | 1,5 | — | — | — | „ | Sehr gutes Wachstum, allgemeine Trübung, Bodensatz, Kahmhaut, keine Fluoreszenzerscheinungen | Sehr dichte allgemeine Trübung, starker Bodensatz, sehr zarte Kahmhaut; keine Fluoreszenz. Diese tritt auf Zusatz von KOH sofort prächtig auf |
| III | 100 | 1 | — | — | — | 1 | — | — | schwach sauer | Geringeres Wachstum wie bei II und besser als bei I. Dünne Kahmhaut, allgem. Trübung, schwach. Bodensatz | Allgemeine Trübung, geringer Bodensatz, zarte Kahmhaut, blaugrüne Fluoreszenz |
| IV | 100 | 1 | — | — | — | 1 | — | — | neutral | Allgemeine Trübung, keine Kahmhaut, wenig Bodensatz, geringeres Wachstum als bei III | Allgemeine Trübung, keine Kahmhaut, geringer Bodensatz, gelbgrüne Fluoreszenz |
| V | 100 | 1 | — | — | — | — | 1 | — | „ | Wachstum ungefähr wie bei I, allgemeine Trübung ohne Kahmhaut, geringer Bodensatz | Allgemeine Trübung, mäßiger Bodensatz, keine Kahmhaut. In den oberen Flüssigkeitspartieen gelbgrüne, in den unteren blaugrüne Fluoreszenz |
| VI | 100 | — | 1 | — | 1,5 | — | — | — | „ | Sehr geringe allgemeine Trübung und Spur Bodensatz, keine Kahmhaut, sehr gering. Wachstum | Noch sehr geringes Wachstum. Keine Fluoreszenzerscheinungen, die nach Zusatz von Alkalien schwach auftreten. Nitritbildung |
| VII | 100 | — | 1 | — | — | 1 | — | — | „ | Geringes Wachstum, Trübung, Spur Bodensatz, keine Kahmhaut | Bedeutend besseres Wachstum als bei VI ohne Kahmhaut. Starke Trübung. Ausgesprochene Nitritbildung. Keine Fluoreszenz, nur schwach bei Zusatz v. Alkali. Nitritbildung |
| VIII | 100 | — | 1 | — | — | — | 1 | — | „ | Spur Wachstum, nur minimale Trübung ohne Bodensatz und Kahmhaut | Etwas schlechteres Wachstum als bei VI. Nitritbildung, keine Fluoreszenz, nur gering nach Alkalizusatz. Nitritbildung |

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| No. | M-Nähr-lösung ccm | Asparagin g | Kaliumnitrat g | Chlor-ammonium g | Dextrose g | Saccharose g | Laktose g | Glycerin g | Reaktion der sterilen Lösung | Wachstumserscheinungen nach 48 Stunden bei 22° C | Wachstumserscheinungen nach 8 Tagen bei 22° C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IX | 100 | — | 1 | — | — | — | — | 1 | schwach sauer | Geringes Wachstum mit oberflächlicher Trübung. Keine Kahmhaut | Keine Fluoreszenz, nur sehr gering auf Zusatz v. Kalilauge. Schlechtes Wachstum. Nitritbildung |
| X | 100 | — | — | 1 | 1,5 | — | — | — | ,, | Kaum merkbares Wachstum. Spur einer Trübung. Kein Bodensatz, keine Kahmhaut | Aeußerst spärl. Wachstum ohne Kahmhaut und Bodensatz |
| XI | 100 | — | — | 1 | 1,5 | — | — | — | neutral | Besseres Wachstum wie b. X, doch noch immer schlecht. Spur Trübung, kein Bodensatz, keine Kahmhaut | Schwache allgemeine Trübung, Spur Bodensatz, Wachstum ungefähr wie bei VII. Fluoreszenz spurweise auf Zusatz von Alkali |
| XII | 100 | — | — | 1 | — | 1 | — | — | ,, | Besseres Wachstum wie bei XI, stärkere Trübung mit sehr gering. Bodensatz, keine Kahmhaut | Allgemeine Trübung, feiner Bodensatz, Fluoreszenz auf Zusatz von Alkali |
| XIII | 100 | — | — | 1 | — | — | 1 | — | ,, | Noch kein wahrnehmbares Wachstum | Kaum merkbar. Wachstum |

tose sind sehr schlechte Nährböden, denn erst nach einigen Tagen ist ein Wachstum eben erkennbar.

Aus allem ist ersichtlich, daß bei einfacheren N-Quellen Saccharosezusatz förderlicher wirkt als Dextrose, während bei hochzusammengesetzten N-Quellen gerade das Umgekehrte gilt. Laktose wirkt in allen Fällen nur wenig günstig auf das Wachstum ein.

Tabelle II.

| No. | M-Nähr-lösung | Asparagin | Kaliumnitrat | Chlor-ammonium | Dextrose | Saccharose | Laktose | Nach 6-tägigem Wachstum bei 22° C restierende Menge von | | | Berechnete Menge des verbrauchten Kohlehydrates | Nach 6-tägigem Wachstum b. 22° C gebildete Menge $^1/_{10}$-Normal- | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | Dextrose | Saccharose | Laktose | | Säure | Alkali |
| | ccm | g | g | g | g | g | g | g | g | g | g | ccm | ccm |
| I | 100 | 1 | — | — | 1,106 | — | — | 0,290 | — | — | 0,816 | 9,55 | — |
| II | 100 | 1 | — | — | — | 0,999 | — | — | 0,800 | — | 0,199 | — | 5,43 |
| III | 100 | 1 | — | — | — | — | 1,051 | — | — | 0,894 | 0,157 | — | 10,32 |
| IV | 100 | — | 1 | — | 0,942 | — | — | 0,885 | — | — | 0,057 | 1,70 | — |
| V | 100 | — | 1 | — | — | 1,049 | — | — | 1,047 | — | 0,002 | 0 | 0 |
| VI | 100 | — | 1 | — | — | — | 1,051 | — | — | 0,998 | 0,053 | 1,05 | — |
| VII | 100 | — | — | 1 | 0,820 | — | — | 0,765 | — | — | 0,055 | 4,62 | — |
| VIII | 100 | — | — | 1 | — | 0,998 | — | — | 0,951 | — | 0,047 | 3,92 | — |
| IX | 100 | — | — | 1 | — | — | 0,901 | — | — | 0,901 | 0,000 | 0 | 0 |
| X | 100 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 10,86 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus Tabelle II ersehen wir den Verbrauch von Kohlehydraten und die dabei gebildeten Mengen von Alkali bezw. Säure. Am intensivsten und am meisten wird Dextrose aufgespalten, einerlei welche von den drei Stickstoffquellen geboten wird (No. I, IV und VII). Dabei finden wir nicht immer gerade das beste Wachstum, wie aus No. VI und X der Tabelle I zu sehen ist. Es liegt hier die Annahme nahe, daß Dextrose überhaupt sehr leicht aufgespalten werden kann und daß die zum Aufbau der Zelle notwendige Menge Kohlenstoff bedeutend geringer ist, als der in Wirklichkeit zersetzten Menge an Dextrose entspricht. Dadurch kommt es naturgemäß zur Anhäufung größerer Säuremengen, die das bei der Spaltung des Asparagins gleichzeitig gebildete Alkali nicht vollends neutralisieren kann. Werden Eiweißkörper als N-Quellen geboten, die für die betreffende Bakterienart sehr leicht zugänglich sind, wird eine sehr energische Ammoniakbildung eintreten, und es kann in diesem Falle auch freies Alkali nach Neutralisierung der aus der Zuckerspaltung entstandenen Säuren nachweisbar sein, wie es bei unserer Bakterienart tatsächlich geschieht, wenn sie auf wenig traubenzuckerhaltiger Nährgelatine gezüchtet wird. Wie uns Versuch No. X zeigt, wird beim Wachstum von Pseudomonas dermatogenes auf mineralischer Nährlösung mit einem Gehalt von 1 Proz. Asparagin ohne besondere C-Quelle sehr viel Alkali (freies Ammoniak) gebildet. Auffallend ist die bedeutende Säureproduktion in der Nährlösung mit Chlorammonium als N-Quelle und Dextrose als C-Quelle.

Saccharose wird in ziemlich bedeutender Menge bei Anwesenheit von Asparagin als Stickstoffquelle verbraucht. Es kommt jedoch nicht zur Bildung überschüssiger Säure, sondern im Gegenteil nach 6-tägigem Wachstum sind 5,43 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali nachweisbar (No. II). Rohrzucker wird in relativ größerer Menge auch bei der Darreichung von Chlorammonium als N-Quelle gespalten, wobei es aber zur Bildung beträchtlicherer Mengen von freier Säure kommt (No. VIII). Dies kann nicht wunder nehmen, da ja Chlorammonium als Stickstoffquelle zwar den N-Bedarf in eben zum spärlichen Wachstum nötiger Menge zu decken vermag, dabei aber keine Quelle für eine Alkalibildung abgibt. Fast kein Verlust an Rohrzucker ist in Versuch No. V nachzuweisen, wo Kaliumnitrat als N-Quelle dient. Hier bleibt auch die ursprünglich vorhandene neutrale Reaktion des Nährsubstrates erhalten. Trotz dieser geringen Spaltung von Zucker findet gerade hier besseres Wachstum statt als bei Zugabe des leicht zugänglichen Traubenzuckers oder der Laktose (vergl. No. VI, VII und VIII der Tabelle I). Es mag ja sein, daß in diesem Falle unsere Bakterienart die Saccharose nur in eben dem Maße angreift, als der C-Bedarf vorhanden ist, wodurch verhältnismäßig günstige Bedingungen durch Erhaltung der neutralen Reaktion geschaffen werden. Die sehr mindere N-Quelle erhält vielleicht noch ganz gut die Vermehrung, ohne es zur Bildung größerer Invertasemassen kommen zu lassen oder, was wahrscheinlicher ist, in diesem Falle kommt es nur zur Bildung einer Invertase von rein endozymatischer Natur. Die wenigen Versuche vermögen diese Fragen nicht zu erklären, regen aber zu weiteren Untersuchungen an, die nun sofort in Angriff genommen werden sollen und worüber später gesondert mitgeteilt werden wird. Die vorliegende Mitteilung befaßt sich eben nur mit der Beschreibung einiger neuer Bakterienspecies und kann biologische Probleme nicht in extenso behandeln, wenn überdies noch eine bedeutende Literatur dabei zu berücksichtigen ist.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Darreichung von Laktose als C-Quelle in Verbindung mit Asparagin oder Chlorammonium als N-Quelle wird von dieser am wenigsten gespalten (No. III und IX). Im ersteren Fall ist der Verbrauch noch relativ groß (0,199 g). Dabei ist eine bedeutende Alkaliproduktion zu verzeichnen (10,32 Proz.). Im letzteren Falle ist überhaupt keine Abnahme des Milchzuckers zu verzeichnen, ebensowenig aber auch eine Aenderung der Reaktion. Das Wachstum ist nur sehr gering und erst am 6. Tage eben nachweisbar. Relativ am größten ist der Laktoseverbrauch im Versuch No. VI, wo Kaliumnitrat die N-Quelle ist.

Unsere Versuchsreihen verfolgen den Zweck, in erster Linie die Verschiedenheiten der beiden fluoreszierenden Bakterienarten darzutun. Daher wurden bestimmte Phasen der Entwickelung herausgegriffen und die in eben diesem Zeitpunkt herrschenden biologischen Verhältnisse durch Zuckerbestimmung und Titration festzustellen versucht. Ein klares Bild über den zeitlichen Verlauf der Spaltungen, über die nach verschiedenen Zeiten auftretenden Zunahmen und Abnahmen dieser Vorgänge gestatten sie aber nicht. Deshalb können daraus allgemeine biologische Schlüsse nicht ohne weiteres gezogen werden. Wie schon angedeutet, sind die erhaltenen Ergebnisse gewiß interessant genug, zu weiteren Versuchen anzuregen und den ganzen Vermehrungsverlauf der Zelle in Beziehung zur Zuckerspaltung und Säure- oder Alkaliproduktion zu verfolgen, worüber eine spezielle Mitteilung mit genauer Berücksichtigung der einschlägigen Literatur berichten wird.

Wachstum in alkoholhaltiger Nährbouillon und in Bier.

Pseudomonas dermatogenes vermag bei einem geringen Aethylalkoholgehalt der neutralen oder schwach alkalischen Fleischbrühe gut zu gedeihen, wenn auch das Wachstum nicht üppig genannt werden kann. Es wurden nur Versuche gemacht, bei denen die Nährbouillon 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Volumprozente Alkohol enthielt. Schon nach 24 Stunden war eine allgemeine Trübung des Nährsubstrates mit geringem Bodensatz bei einem Gehalt bis 3 Proz. zu beobachten. In den Proberöhrchen mit 4 Proz. Alkohol konnte nach 48 Stunden Wachstum festgestellt werden, während bei 4 und 5 Proz. Alkohol erst nach 4 bezw. 6 Tagen eine äußerst geringe Vermehrung der eingebrachten Bakterien zu verzeichnen war. In dem Röhrchen mit 6 Proz. wurde selbst nach 14-tägiger Beobachtung keine Veränderung wahrgenommen.

In pasteurisiertem Märzenbier mit einem Alkoholgehalt von ungefähr 5 Volumprozenten kommt nur eine äußerst spärliche Vermehrung unserer Bakterienart zur Beobachtung. Nach 4—6 Tagen gewahrt man einen sehr geringen Bodensatz, wenn die Proben bei Zimmertemperatur gehalten wurden.

Auf die Widerstandsfähigkeit unserer Bakterienart gegen höhere Temperaturen, gegen Pasteurisieren und auf die Versuche bezüglich der Lebensdauer von Pseudomonas dermatogenes in Bier von verschiedenem Extrakt und Alkoholgehalt braucht hier nicht näher eingegangen zu werden, da zur Beantwortung dieser Fragen mit allen aus Flaschenbier isolierten Bakterienarten Untersuchungen angestellt werden, über die später gesondert berichtet werden soll.

## III. Pseudomonas myxogenes.

Diese Bakterienart wurde aus einer Bierprobe isoliert, die einen Alkoholgehalt von 4,03 Gewichtsprozenten aufwies. Die Halbliter-

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

flaschen waren von der Brauerei selbst gefüllt und mit einem guten Korkstopfen versehen. Auf der mit 1 ccm dieses Flaschenbieres gegossenen Gelatineplatte waren nach 48 Stunden 613 Bakterienkolonieen zu zählen. Die mit derselben Menge Bier hergestellte Agarplatte wies nach 47-stündigem Aufenthalt bei 35° C 47 Kolonieen auf. Wegen der einseitig polaren Begeißelung unserer Stäbchenbakterie gehört sie zur Gattung Pseudomonas des Systems von Migula. Sie erhielt noch den Beinamen myxogenes, da bei deren Kultur in zuckerhaltigen Nährsubstanzen schleimige Bodensätze oder Auflagerungen entstehen. Von Pseudomonas dermatogenes unterscheidet sie sich ganz wesentlich, ebenso konnte sie mit den bereits beschriebenen fluoreszierenden und Gelatine energisch peptonisierenden Bakterienarten nicht identifiziert werden.

## Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Auf der neutralen Gelatineplatte bildet unser Bakterium zwei Kolonieformen, deren Stäbchen, auf schief erstarrten Agar oder auf andere Nährböden gebracht, sich vollständig identisch erwiesen. Die mit Ablegern beider Kolonieformen zu wiederholten Malen angelegten Gelatineplatten enthielten jedesmal beide Kolonieformen nebeneinander. Die eine Kolonieform zeichnet sich durch eine stärkere Oberflächenausbreitung und geringere Fähigkeit, die Gelatine zu peptonisieren, aus. Diese Auflagerungen sind flächenhaft, zart und scharf begrenzt. Sie sind nahezu kreisrund und fast nicht gefärbt. Ihre Mitte ist nur mäßig kuppenförmig erhöht, ihre Oberfläche sehr zart und fein geädert. Die Umgrenzungslinie zeigt nur sehr geringe Kerbung. In der Umgebung wird die Gelatine erweicht. In die weichen Massen erstrecken sich aber keine Ausläufer. Abbildung 4 der Tafel zeigt uns rechts das Bild einer eben beschriebenen Gelatineoberflächenkolonie nach 12-stündigem Wachstum bei 22° C. In derselben Figur auf der linken Seite gewahren wir den zweiten Kolonietypus unserer Bakterienart. Die Kolonieen sind bedeutend kleiner, dafür aber beträchtlich dicker. Diese Auflagerungen haben eine ausgesprochen braungelbe Eigenfarbe. Ihre Oberfläche zeigt ebenfalls die feine Aederung der vorbesprochenen Form. In der Umgebung dieser Kolonieen wird die Gelatine viel rascher verflüssigt. Nach einigen Tagen fluoreszieren die verflüssigten Massen in gelbgrüner Farbe. Ich habe hier beide Kolonieformen besprochen, kann mich aber auf eine Erklärung dieser Erscheinung, die übrigens keineswegs neu und in der Literatur bereits erwähnt ist, nicht näher einlassen. Vorderhand soll die Konstatierung dieser Tatsache genügen.

Untersucht man die Bakterien einer der beschriebenen Kolonieformen im hängenden Tropfen, so gewahrt man kleine, kurze und sehr gut eigenbewegliche Stäbchen. Sie tanzen und schießen im Gesichtsfelde nur so hin und her. Meistens sind sie einzeln, oft zu zweit vereint oder etwas verlängert, entsprechend den Teilungsstadien. Fadenbildungen kommen nicht zur Beobachtung.

In dem mit $^1/_8$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparat von 48-stündigen Kolonieen sieht man homogen rot tingierte, an den Enden abgerundete Stäbchen, deren Länge 1—1,5 $\mu$ und deren Breite ungefähr 0,4—0,5 $\mu$ mißt.

Die in der Tiefe der Gelatineplatte liegenden Kolonieen sind kugelig, ohne Ausläufer und braungelb gefärbt.

Die Gelatinestichkultur läßt Wachstum längs des ganzen Impf-

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stiches erkennen. Nach 48 Stunden beobachtet man die ersten Verflüssigungserscheinungen. Es bildet sich ein scharf abgesetzter, kleiner und seichter Verflüssigungstrichter, an dessen Grunde sich ein gelbweißer Bodensatz ansammelt. Die Verflüssigung schreitet langsam in die Tiefe fort und breitet sich dabei aus. Zu ausgesprochenen Fluoreszenzerscheinungen kommt es erst sehr spät.

Auf die schief erstarrte Agaroberfläche überimpft und bei 22 ° C gehalten, bildet unsere Bakterienart nach 24 Stunden einen mäßig dicken, sehr feuchten und glänzenden Belag von gelbweißer Farbe. Das Kondenswasser ist sehr stark getrübt und am Grunde hat sich ein gelbweißer Bodensatz angesammelt. Zugleich bemerkt man hellgrüne Fluoreszenz im Nährsubstrat. Nach einigen Tagen hat sich die Auflagerung bedeutend verdickt und eine ausgesprochen zitronengelbe Farbe angenommen. Beim Abimpfen erweist sich der Belag als sehr schleimig und etwas fadenziehend, läßt sich in Wasser aber ziemlich gut verteilen. Die von jungen, bei Zimmertemperatur gewachsenen Agarkulturen hergestellten hängenden Tropfen zeigen sehr lebhaft bewegliche kleine Stäbchen.

Die von solchen Kulturen angefertigten und mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparate enthalten homogen tingierte, kleine und an den Enden leicht abgerundete Stäbchen, wie es Fig. 9 der Tafel zeigt. Ihre Länge beträgt im Mittel 1 $\mu$, ihre Breite 0,4 $\mu$. Sie sind meist in kleinen Gruppen gelagert und zwar mit ihrer Längsseite aneinanderliegend.

Die Gramsche Färbung fällt negativ aus.

Versucht man Pseudomonas myxogenes bei höherer Temperatur zu züchten, so erhält man ganz andere Formen. Fig. 10 der Tafel zeigt uns das Bild eines mit Löfflerschem Methylenblau gefärbten Ausstrichpräparates von einer Agarkultur, die bei 35 ° C durch 24 Stunden gehalten wurde. Es wurde eine Oese junger, bei 22 ° C angegangener Agarkultur auf eine frische Agaroberfläche übertragen und dann der Temperatur von 35 ° C ausgesetzt. Wir sehen nichts mehr von den Kurzstäbchen, sondern nur mehr verlängerte und zu Fäden umgewandelte Formen, an denen keine ausgesprochene Gliederung mehr zu erkennen ist. Die ungleiche Färbung der einzelnen Fäden ist darauf zurückzuführen, daß der Ausstrich ziemlich dick ist und aus mehreren Lagen besteht. Auf die Zellen der obersten Lage wirkt der Farbstoff am stärksten ein und auf die tiefer gelegenen nur schwach. Durch das Abtrocknen des Präparates zwischen Filtrierpapier werden nun die obersten Lagen zum größten Teil mechanisch entfernt und es bleiben davon nur Reste zurück, die dann besonders intensiv tingiert hervortreten. Aus der zuletzt angezogenen Figur entnehmen wir weiter, daß die gebildeten Fäden keine nennenswerte Verdickung aufweisen und überall gleich dick bleiben. Untersucht man die Fadenformen lebend im hängenden Tropfen, so kriechen diese unter schlangenartigen Windungen nicht sehr rasch weiter. Wir sehen hier Erscheinungen, die ich bereits in der ersten Mitteilung über die Bakterienflora des Flaschenbieres [1]) beschrieb. Schon durch diese Formveränderung bei der Zucht in höherer Temperatur unterscheidet sich Pseudomonas myxogenes ganz wesentlich von Pseudomonas dermatogenes, bei welch letzterer davon nichts zu bemerken ist.

1) Diese Zeitschr Bd. XVI. 1906. p. 313.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine nennenswerte Vermehrung unserer Bakterienart bei Brüttemperatur findet überhaupt nicht statt. Das Temperaturoptimum liegt um 22° C. Bei dieser Temperatur gehalten, wird das schnellste Wachstum und die beste Farbstoffproduktion beobachtet.

Die mit jungen bei 22° C gewachsenen Agarkulturen unseres Bakteriums nach der vereinfachten Zettnowschen Geißelfärbungsmethode hergestellten Präparate zeigen an einem Zellpole ein Büschel von 5—7 feinen, meist stark wellig gebogenen, langen Geißeln, wie es Fig. 11 der Tafel wiedergibt. Aus der Vergleichung der Abbildungen 8 und 11 ergibt sich auch sofort ein Unterschied in der Anzahl und Form der Geißeln bei Pseudomonas dermatogenes (Fig. 8) und Pseudomonas myxogenes (Fig. 11). Erstere besitzt weniger und gerader verlaufende Geißelfäden.

Die Agarstichkultur unseres Bakteriums läßt gutes Oberflächenwachstum erkennen. In den unteren Agarpartieen findet nur eine langsame Vermehrung von Pseudomonas myxogenes statt. An der Oberfläche entsteht um den Imspfstich eine schleimige und sehr feuchte Auflagerung, wie sie bei der Agarstrichkultur beschrieben ist. Auch in der dextrosehaltigen Agarstichkultur findet keine Gasbildung statt.

Die anaërobe Kultur nach Buchner ergibt, daß bei Sauerstoffmangel nur sehr spärliches Wachstum statthat. Es ist demnach unsere Bakterienart zu den fakultativ anaërob wachsenden Arten zu rechnen. Eine Farbstoffbildung vermißt man dabei stets.

Die sterilisierte Kartoffelscheibe ist für Pseudomonas myxogenes ein guter Nährboden. Schon nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur bemerkt man eine schmutziggelbe, feuchtglänzende und scharf begrenzte Auflagerung. Nach 6-tägigem Wachstum ist der Belag sehr dick, schmierig und von honiggelber Eigenfarbe. Die Oberfläche glänzt. In dem mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparat bemerkt man neben den bereits beschriebenen kurzen Stäbchen längere Formen von schlanker Gestalt. Es sind 6—8 $\mu$ lange Stäbchen von normaler Dicke, die mitunter etwas ungleich tingiert und verschieden stark gekrümmt sind. Längere Fadenbildungen wie bei der Zucht in hoher Temperatur kann man hier nicht beobachten.

Ebensowenig konnte eine Sporenbildung festgestellt werden, einerlei bei welcher Temperatur oder auf welchem Nährsubstrat gezüchtet wurde.

Auf der Scheibe von gekochtem Hühnerei ist das Wachstum von Pseudomonas myxogenes gut. Bei 22° C bildet sich nach 24 Stunden eine schmierige, gelbbraune Auflagerung längs des Impfstriches auf dem Weißen. Die umliegenden Partieen des Nährbodens sind grünlich-rosa verfärbt. Nach ungefähr einer Woche hat sich die braungelbe Auflagerung weiter ausgebreitet, ihre Farbe aber nicht geändert. Die Eiweißmassen sind erweicht und teilweise verflüssigt. Zur Bildung von Bakteriofluorescein kommt es nicht. Beim Eröffnen des Kulturglases entströmt sehr viel Ammoniak. Bei höherer Temperatur findet auf dem gekochten Hühnerei ebenfalls kein Wachstum statt.

## Wachstum auf flüssigen Nährsubstraten.

Pseudomonas myxogenes gedeiht in Traubenzuckerbouillon sehr gut. Nach 24 Stunden bei 22° C gewahrt man eine allgemeine Trübung mit weißgelbem Bodensatz. Später wird der Boden-



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

satz zusammenhängend und beim Umschütteln erhebt er sich als weißgelbe Wolke in der Flüssigkeit. Bei langem und starkem Durchschütteln wird dieselbe nur schwer verteilt. Beim Herausfischen der Bodensatzmassen mit der Oese erweisen sich diese als schleimige und etwas fadenziehende Massen. Zur Bildung einer Kahmhaut kommt es selbst nach wochenlangem Wachstum nicht. Auch beobachtet man keine Fluorészenz in der Flüssigkeit. Trotzdem wurde Bakteriofluorescein in der Kultur gebildet, denn auf Zusatz von Ammoniak oder Lauge tritt sofort gelbgrüne Fluoreszenz auf.

In Peptonwasser wächst Pseudomonas myxogenes bedeutend besser als Pseudomonas dermatogenes. Nach 24 Stunden bei 22° C beobachtet man eine allgemeine Trübung und einen weißen Bodensatz, der sich beim Aufschütteln leicht verteilen läßt. Es fehlen hier die schleimigen Massen, welche in Traubenzuckerbouillon zu sehen waren. Auch nach wochenlangem Wachstum wird keine Kahmhaut gebildet.

Die mit 6-tägigen Peptonwasserkulturen unseres Bakteriums ausgeführten Indolproben ergaben die Anwesenheit ziemlich bedeutender Indolmassen.

Sowohl in Bouillon als auch in Peptonwasser werden nur Kurzstäbchen gebildet, die lebhaft eigenbeweglich sind und färberisch keine auffallenden Befunde erkennen lassen.

In steriler Milch gedeiht Pseudomonas myxogenes gut. Nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur läßt die damit beimpfte Milch noch keine makroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen erkennen, doch nach 48 Stunden gewahrt man eine feinflockige Kaseinfällung. Das darüberstehende Milchserum ist in den oberflächlichen Partieen schwach gelblich gefärbt; zur Bildung eines Deckhäutchens kommt es auch nach langer Zeit nicht. In der Folge findet eine langsame Lösung des gefällten Kaseins statt.

In Petruschkys Lackmusmolke wächst Pseudomonas myxogenes ebenfalls gut. Nach 24 Stunden bemerkt man eine allgemeine Trübung und einen geringen Bodensatz. Ein Farbenumschlag ins Blaue ist erst nach 3 Tagen zu sehen. Die mit 5-tägigen Lackmuskulturen unserer Bakterienart ausgeführten Titrationen ergaben eine Alkalibildung von 4,7 Prozent $^{1}/_{10}$-Normal. Das gebildete Alkali ist Ammoniak.

### Wachstum in verschieden saurer und alkalischer Traubenzuckerbouillon.

Hier wurde die gleiche Versuchstechnik angewendet wie bei Pseudomonas dermatogenes. Nach denselben Prinzipien wurde auch die folgende Kurve angelegt, die sich auf ein 5-tägiges Wachstum bei 22° C bezieht.

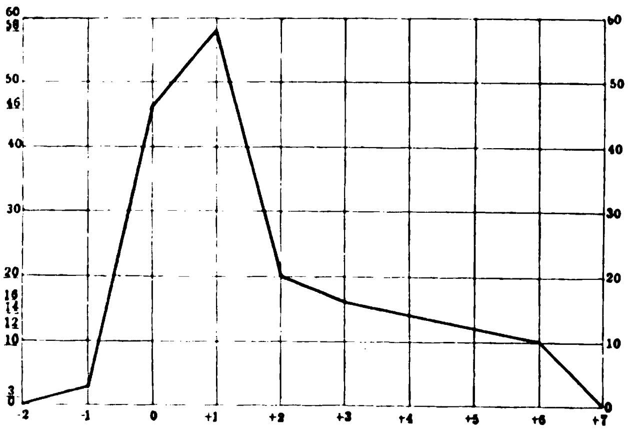
0 entspricht dem Röhrchen mit neutraler Bouillon, die Zahlen mit positivem Vorzeichen entsprechen den Röhrchen mit 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 Proz. Normal-NaOH-Gehalt und die Zahlen mit vorgezeichnetem Minus denjenigen Eprouvetten, deren Inhalt mit 1 resp. 2 Proz. Normal-$C_2H_4O_2$ versetzt war.

Die Kurve II zeigt uns, daß in Nährbouillon mit einem Gehalt von 1 Proz. Normal-Natronlauge optimales Wachstum statthat. Dann findet eine rasche Abnahme der Wachstumsintensität bis 2 Proz. Normallauge statt. Von da ab ist der Abfall im Wachstum bis

Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

6 Proz. sehr gering und allmählich; bei 7 Proz. Normalkaligehalt hört jede Vermehrung auf. Aber auch in neutraler Nährbouillon ist das Wachstum sehr gut, bedeutend besser als bei 2 Proz. N-Alkali. Sehr gering ist dasselbe bei einem Gehalt von 1 Proz. Normal-Essigsäure und gleich 0 bei 2 Proz. Normal-$C_2H_4O_2$.

Bezüglich der Fluoreszenzerscheinungen sei hervorgehoben, daß diese nach einigen Tagen in den Röhrchen mit einem Alkaligehalt von 1, 2, 3 und 4 Proz. Normal am schönsten zu sehen sind.




Kurve II.

Beim Vergleiche der Wachstumskurve von Pseudomonas dermatogenes (Kurve I) mit der von Pseudomonas myxogenes (Kurve II) fällt auf, daß beide Bakterienarten beim gleichen Alkaligehalt (+ 1) das beste Wachstum zeigen. Die Verschiedenheiten dokumentieren sich auch nicht in der Wachstumsbreite, denn beide Arten vermögen sich sowohl bei einem Gehalt von 1 Proz. Normal-Essigsäure als auch noch bei einem Gehalt von 6 Proz. Normal-Natronlauge zu vermehren. Unterschiede treten aber im Verlauf der Kurve auf. Während Pseudomonas dermatogenes in neutraler Nährbouillon nicht einmal halb so gut gedeiht als bei optimalem Alkaligehalt und auch schlechter als bei 2 Proz. Normalalkaligehalt, finden wir bei Pseudomonas myxogenes gerade in neutraler Bouillon ein sehr gutes Wachstum, das dem beim Alkaleszenzoptimum nur wenig nachsteht, dagegen bei 2 Proz. Normalnatronlaugegehalt ein bedeutend geringeres Wachstum als bei Neutral. Auch im übrigen Verlauf zeigen die Kurven beider Bakterienarten nicht unwesentliche Unterschiede.

(Schluß folgt.)



Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft,

## nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich (Vorstand: Prof. Dr. R. Burri).]

Von **Leo Müller.**

### A. Einleitung.

Die erste vollständige Beschreibung des Bacterium Güntheri datiert vom Jahre 1894. Es ist das Verdienst Leichmanns (32, 33), der, nachdem bereits verschiedene Mikroorganismen als Milchgerinner hingestellt worden waren, auf die Veranlassung von Fleischmann die Frage der spontanen Milchgerinnung von neuem aufgriff und auf Grund eines umfassenden Versuchsmaterials zu dem Schlusse kam, daß die spontane Milchgerinnung auf einen Spaltpilz zurückzuführen sei, den er, zum Unterschiede von dem Hueppeschen Bacillus acidi lactici, Bacterium lactis acidi nannte.

Die Befunde Leichmanns fanden schon im Jahre darauf ihre volle Bestätigung durch eine Publikation von Günther und Thierfelder (19), von welchen ein als Erreger der spontanen Milchgerinnung erkannter Spaltpilz in seinem morphologischen und physiologischen Verhalten näher charakterisiert wurde. Auffallenderweise glaubten Günther und Thierfelder eine Identität ihres Bakteriums mit dem von Hueppe isolierten Bacillus acidi lactici konstatieren zu müssen. Die beiden Organismen sind indessen nicht nur in ihrem morphologischen, sondern auch in ihrem physiologischen Verhalten so verschieden, daß die Möglichkeit einer Identität wohl kaum in Frage kommen kann.

Kozai (25) fand, daß bei Zimmertemperatur das Leichmannsche Bact. lactis acidi, von ihm Bact. acidi paralactici genannt, bei höherer Temperatur dagegen zwei andere Organismen die Hauptrolle bei der spontanen Milchgerinnung spielen. Sein Bact. acidi paralactici stimmt mit dem von Leichmann wie von Günther und Thierfelder beschriebenen überein. Auch Kozai gelang es nicht, übereinstimmende Merkmale zu dem Bact. acidi lactici herauszufinden und die beiden zu identifizieren.

Schweitzer (39) beschäftigt sich in einer milchhygienischen Studie nebenbei auch mit dem Bact. lactis acidi, prüft das morphologische und kulturelle Verhalten dieses Organismus, um zu den gleichen Schlußfolgerungen wie Leichmann, Günther und Thierfelder zu kommen.

Weigmann (46) pflichtet den von genannten Forschern geäußerten Auschauungen bei und schreibt dem Bact. lactis acidi Leichm. die Hauptrolle bei der spontanen Milchgerinnung zu.

Utz (45) nennt als häufigsten Erreger der spontanen Milchgerinnung das Bact. acidi lactici Hueppe. Ein Blick auf die Beschreibung des von diesem Autor isolierten Organismus belehrt aber sofort, daß es sich

Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

nur um das Leichmannsche und nicht um das Hueppesche Stäbchen handeln konnte.

Wir wollen dem Bact. acidi lactici, das offenbar dem Bact. lactis aërogenes nahesteht oder mit ihm identisch ist, seinen Anteil an der spontanen Milchgerinnung gar nicht absprechen, ist doch auch von Leichmann und Kozai nachgewiesen worden, daß sich dieser Mikroorganismus in den oberen Milchschichten häufig vorfindet. Aus den Arbeiten der hier zitierten Forscher ist jedoch deutlich zu ersehen, daß dem Bact. lactis acidi die Hauptrolle bei der Milchgerinnung eingeräumt werden muß. Auch Lehmann und Neumann (31) sprechen sich in dem Sinne aus.

Der Vollständigkeit halber sei noch auf einige mit den bereits aufgezählten in engstem Zusammenhange stehende Arbeiten hingewiesen; es handelt sich dabei um die Besprechung von Mikroorganismen, die, wenn ihre Beziehungen zur Milchgerinnung entweder damals nicht klar festgestellt oder ihre Identität mit dem gewöhnlichen Milchsäurebakterium erst nachträglich erkannt wurde, doch beanspruchen, zitiert zu werden, um so mehr als einige davon noch älteren Datums sind als die grundlegenden Arbeiten von Leichmann, Günther und Thierfelder. So ist der von Grotenfeld (17) entdeckte „Streptococcus acidi lactici Grotenfeld", sind die von Storch (43) aus Rahm, die von Gerda Troili-Petersson (44) aus saurer, sowie aus „Zähmilch", die von Laxa (29) aus „Harrachkäse" isolierten Bakterien, der von Beijerinck (5) entdeckte „Lactococcus lactis" und die von Esten (12) in Amerika gezüchteten Milchsäurebakterien wohl nichts anderes als das gewöhnliche Bact. lactis acidi, wie es von Leichmann zum ersten Male eingehend beschrieben wurde.

Und nun zur Nomenklatur. Leichmann nannte den von ihm entdeckten Organismus Bact. lactis acidi. Günther und Thierfelder abstrahierten von einer Benennung. Lehmann und Neumann (30), in Erwägung des Umstandes, daß die Bezeichnung Bac. lactis acidi bereits für eine von Marpmann beschriebene Art in Anspruch genommen und Leichmann noch eine andere Art Bac. lactis acidi geheißen, gaben ihm im Jahre 1896 den Namen Bacterium Güntheri L. u. N. Etwas späteren Datums ist die Bezeichnung „Bacillus lacticus Kruse". Kozai heißt ihn, weil in steriler Milch immer Rechtsmilchsäure erzeugend, Bact. acidi paralactici. Kruse (27) glaubt ihn später der nahen Verwandtschaft mit den Streptokokken wegen Streptococcus lacticus heißen zu müssen.

Der Gedanke zu einer solchen Benennung ist auf den ersten Blick sehr verfänglich, denn wohl jeder, der sich eingehend mit Milchbakteriologie beschäftigt, ist schon auf Güntheri-Formen gestoßen, von denen er anfänglich nicht wußte, ob er sie zu den Streptokokken oder zu den Kurzstäbchen zählen sollte. Angenommen, die bisher nur vermuteten Verwandtschaftsbeziehungen seien durch einschlägige Versuche klar festgestellt, muß sich uns doch sofort die Frage aufdrängen: Welche Form ist denn nun eigentlich die ursprüngliche, welche die sekundäre? Mit anderen Worten: Hat man in den Streptokokken Kurzstäbchen zu erblicken, die bis zur Kugelgestalt verkürzt sind, oder sind die gewöhnlichen Milchsäurebakterien (Typus Güntheri) als eigentümlich gestaltete, bipolar ausgezogene Kugelbakterien aufzufassen?

Mein hochverehrter Lehrer, Herr Prof. Dr. Burri, dem ich die An-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

regung zu dieser Arbeit verdanke, ist geneigt, den ersten Standpunkt zu vertreten, und zwar namentlich aus folgenden Gründen:

1) Eine Verkürzung ausgeprägter Stäbchenbakterien bis zur Entstehung isodiametrischer Formen ist sehr häufig, während typische Kugelbakterien, wie die Mikrokokken, niemals eine Streckung in der Richtung senkrecht auf die Teilungsebene zeigen.

2) Das Bacterium Güntheri tritt unter Umständen in so extrem verlängerten, aber physiologisch noch normal wirksamen Formen auf, daß man hierbei niemals an eine Verwandtschaft mit Kugelbakterien denken würde, sondern vielmehr zu der Ueberzeugung gelangen muß, daß in den betreffenden Fällen die fraglichen Organismen den eigentlichen Kern ihrer morphologischen Abstammung enthüllen.

3) Den in der freien Natur außerordentlich stark verbreiteten Güntheri-Formen gebührt gegenüber den vorzugsweise bei pathologischen Prozessen im menschlichen und tierischen Organismus auftretenden Streptokokken der Anspruch, als etwas Primäres, einen Ausgangspunkt Bildendes betrachtet zu werden. Die umgekehrte Auffassung wäre eine gezwungene, den tatsächlich zu beobachtenden Verhältnissen bei der Entstehung pathogener Mikroorganismenrassen aus saprophytischen nicht Rechnung tragende.

Darüber, daß die Annahme einer Verwandtschaft zwischen Milchsäurebakterien und pathogenen Streptokokken immer mehr Boden gewinnt, kann kein Zweifel bestehen. Hingegen ist darauf hinzuweisen, daß die moderne Nomenklatur, welche gezwungen ist, dem angedeuteten Wandel der Anschauungen gerecht zu werden, durch die Einreihung der Milchsäurebakterien in die Gattung Streptococcus eine Auffassung über die morphologische Natur jener Organismen vertritt, welche kaum das richtige treffen dürfte.

## B. Untersuchungsmethoden.

### Kulturelles Verhalten.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf Aussehen, Form und Größe der Kolonieen und deren Wachstum auf festen Nährböden, Form und Intensität des Stichwachstums; Natur der verursachten Trübung und des Bodensatzes, Ring- und Deckenbildung in flüssigen Nährböden. Als feste Nährböden benutzten wir: Milchzuckeragar (H. Sch.), Molkengelatineplatten, Peptonschottenagarplatten, Molkengelatinestich, Milchzuckeragarstich, Kartoffel und als flüssige: Peptonschotte, Nährbouillon und Milch.

### Morphologischer Befund.

Form, Größe und Wuchsformen der zur Untersuchung gelangten Mikroorganismen:

nach Präparaten im hängenden Tropfen aus den oben angeführten Nährböden,

nach Präparaten aus den Versuchen mit den verschiedenen Kohlenstoffquellen.

Die morphologischen Befunde sind jeweilen unter der Bezeichnung mikroskopischer Befund wiedergegeben.

Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## Physiologisches Verhalten.

Da die Güntheri am häufigsten in der Milch vorkommen, war es naheliegend, sich über die durch diese darin bewirkten Veränderungen in erster Linie Rechenschaft zu geben. Normalerweise säuert das Bacterium Güntheri eine damit geimpfte sterile Milch ohne Gasbildung durch reine Rechtsmilchsäure, wodurch bei 30° innerhalb 24 Stunden die Gerinnung, d. h. die Ausscheidung des Kaseins in Form eines homogenen Koagulums erfolgt. Wenn auch auf bedeutende Unterschiede nicht gehofft werden konnte, war doch bei diesem oder jenem Stamme infolge der heterogenen Provenienz eine Abweichung von der normalen Gerinnungszeit und dem normalen Säuregrad zu erwarten, die vielleicht von vergleichendem Werte sein konnte.

Wir stellten im Mai 1905 und im Februar 1906 die Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37° fest, wobei außerdem das Aussehen des Koagulums eine gebührende Berücksichtigung fand.

Im Oktober 1905 prüften wir die Säureproduktion bei Kultur in sterilisierter Milch bei 30° sofort nach der Gerinnung und nach 10 Tagen. Die gebildete Säure wurde jeweilen in „Säuregraden" angegeben, wobei wir als „Säuregrad" die Anzahl Kubikcentimeter $\frac{n}{10}$ NaOH bezeichnen, die notwendig sind zur Neutralisation der in 20 ccm Kulturflüssigkeit gebildeten Säure; Indikator: 2 ccm 2-proz. Phenophthalein. Der Säuregrad ist als absoluter, d. h. abzüglich der Säure der ungeimpften Kontrollgläschen, zu verstehen.

Das Hauptinteresse galt dem Versuch: Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen, dessen Prinzip wir am Schlusse der Arbeit bei Besprechung der erhaltenen Resultate erörtern werden. Es erübrigt uns also hier, nur noch mit einigen Worten auf die Art und Weise der Ausführung einzugehen. Vorher sei noch kurz bemerkt, daß die in den einzelnen Tabellen regelmäßig wiederkehrende, die verschiedenen Kohlenstoffquellen zusammenfassende Bezeichnung „Kohlehydrat" nur der Einfachheit halber gewählt worden ist.

Das Fleisch enthält mehr oder weniger große Mengen Fleischzucker, der, wenn aus der damit hergestellten Bouillon nicht eliminiert, für unsere Versuche eine Fehlerquelle bilden und die Resultate unzuverlässig machen würde; wir mußten unbedingt mit einer zuckerfreien Bouillon operieren, und um eine solche zu erhalten, verfuhren wir in Anlehnung an die Vorschläge von Smith (40) und Leichmann in folgender Weise:

Den durch 2-stündiges Kochen im Dampftopf erhaltenen rohen Fleischsaft (500 g und 1 l Wasser) beschickten wir nach vorherigem Sterilisieren mit einer Reinkultur eines kräftigen Zuckervergärers. Für unsere Zwecke hat sich, nachdem eine Anzahl Stämme auf ihr Gärvermögen geprüft worden waren, ein Güntheri aus Kuhkot am geeignetsten erwiesen, indem dieser Stamm bei 30° innerhalb 24 Stunden allen Fleischzucker unter lebhafter Trübung der vorher klaren Flüssigkeit vergor. Da solch starke Bakterientrübungen durch bloßes Filtrieren nicht entfernt werden können, schönten wir die getrübte Bouillon mit Eiweiß bei einer Temperatur von 40—50°, erhitzten langsam bis zum Siedepunkt, wodurch dieses in feiner Form ausgeschieden wurde, die trübenden Bestandteile mit sich reißend. Die filtrierte Flüssigkeit wurde dann mit 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Kochsalz versetzt, $^1/_4$ Stunde in den Dampftopf gebracht, mit 10 Proz. NaOH auf Kurkumapapier eingestellt, wieder $^1/_4$ Stunde in den Dampftopf gebracht, filtriert, die Flüssigkeit in die sterilen Gläschen abgefüllt und das notwendige Kohlehydrat in Form einer 10-proz. Lösung zugesetzt, um eine 1-proz. Zuckerlösung zu bekommen. Die so beschickten Bouillongläschen wurden vor dem Impfen der fraktionierten Sterilisation unterworfen.

Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Die Versuchsreihe mit verschiedenen Kohlehydraten wurde zweimal doppelt ausgeführt, und zwar in der Weise, daß das erste Mal Fleisch (500 g pro Liter Wasser), das zweite Mal Liebigs Fleischextrakt (10 g pro Liter Wasser) zur Verwendung kam. Liebigs Fleischextrakt hat sich für solche Gärversuche gut bewährt.

Die folgende kleine Tabelle wird diese Behauptung rechtfertigen.

Feststellung des Unterschiedes in der Säureproduktion bei Anwendung von Fleischbouillon und Liebigs Extraktbouillon.

| Kohlehydrat | Stamm Va, Güntheri aus Kuhkot | | | Stamm XIIIa. Galtstreptococcus | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Fleischbouillon vergoren | Liebigs Extraktbouillon unvergoren | Liebigs Extraktbouillon vergoren | Fleischbouillon vergoren | Liebigs Extraktbouillon unvergoren | Liebigs Extraktbouillon vergoren |
| | Säuregrad | Säuregrad | Säuregrad | Säuregrad | Säuregrad | Säuregrad |
| Dextrose | 11,2 | 14,8 | 10,4 | 11,6 | 12 | 12 |
| Lävulose | 9,6 | 16,6 | 12,6 | 12 | 11 | 10,4 |
| Laktose | 7,4 | 8 | 7,4 | 8,8 | 8 | 9 |
| Maltose | 7 | 12,4 | 7,8 | 9,6 | 9,6 | 9,6 |
| Saccharose | 0 | 0 | 0 | 0,9 | 0,4 | 0,4 |
| Arabinose | 1 | 1 | 1,2 | 10 | 7,6 | 7.8 |
| Mannit | 0 | 0 | 0 | 6 | 8 | 7,6 |
| Glycerin | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,6 | 1 | 0,6 |

Die durchweg höheren Zahlen, wie sie in unvergorener Bouillon erhalten wurden, sind natürlich darauf zurückzuführen, daß der von vornherein im Fleischextrakt enthaltene Fleischzucker unter dem Einfluß des eingeimpften Vergärers sich ebenfalls in Säure umwandelte und diese zu der aus dem beigefügten Kohlehydrat erhaltenen addiert wurde. Wenn auch an Hand dieses Vorversuches eine vollständige Uebereinstimmung der Resultate nicht konstatiert werden kann, so werden wir doch aus der zusammenfassenden Schlußtabelle den Eindruck gewinnen, daß die minimalen Differenzen, wie sie sich da und dort zeigen, nicht schwerwiegend genug sind, um durch Verwendung von richtiger Fleischbouillon auf die ganz bedeutenden Vorteile der vergorenen Liebigs Fleischextraktbouillon verzichten zu müssen. Die sich da und dort geltend machenden Unterschiede in den Säurezahlen der ersten und zweiten Versuchsreihe ließen anfänglich die Vermutung wach werden, daß vielleicht neben dem zeitlich stark variierenden Säureproduktionsvermögen auch die Art und Weise der Ausführung der Säurebestimmungen einen Einfluß ausübe. Die Säure wurde im ersten Falle in der Weise bestimmt, daß die saure Bouillon mit einer bestimmten Quantität destillierten Wassers in ein Glas gespült und da mit $\frac{n}{10}$ NaOH titriert wurde; im zweiten Versuche erfolgte die Titration im Gläschen selber. Ein mit ein und demselben Stamme doppelt ausgeführter Versuch, wo beide Methoden zur Anwendung gelangten, zeigt hingegen deutlich, daß die Resultate in einem wie im anderen Falle genau übereinstimmen und der Unterschied in den Säurezahlen lediglich auf Rechnung der großen Variabilität des Säurebildungsvermögens geschrieben werden muß.

Eine im Jahre 1899 von McDonnell (9) publizierte Arbeit veranlaßte uns, auch dem Einfluß verschiedener Stickstoffverbindungen als Nährstoff für das Bacterium Güntheri einige Aufmerksamkeit zu schenken. Zu dem Zwecke prüften wir unsere verschiedenen Stämme auf Wachstum und gebildete Säure in einer mineralischen, 1 Proz. Dextrose haltenden Nährlösung [nach A. Fischer (13)]:

0,1 Proz. Dikaliumphosphat $K_2HPO_4$
0,02 „ Magnesiumsulfat $MgSO_4$
0,01 „ Calciumchlorid $CaCl_2$

bei variierender Stickstoffquelle (Asparagin, Kalinitrat, weinsaures Ammon und Pepton). Dieser Versuch ist zweckmäßigerweise bei der Besprechung des physiologischen Verhaltens niedergelegt.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## C. Vergleichende Prüfung der Eigenschaften von Güntheri-Stämmen verschiedenster Herkunft.

### I. Bacterium Güntheri aus Milch, die während 24 Stunden im 38°-Schranke gestanden hat.

Zur Isolierung des Stammes Ia diente Milchzuckeragar in hoher Schicht, nach dem von R. Burri (6) angegebenen Verfahren. Stamm Ib wurde erhalten mittels Molkengelatine, welcher zur besseren Erkenntnis der säurebildenden Kolonieen steriler kohlensaurer Kalk beigemischt war.

Kulturelles Verhalten.

| Stamm Ia. | Stamm Ib. |
|---|---|
| **Milchzuckeragar** (H. Sch.) bei 30°. Verdünnung a (Schüttelkultur) zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum. Kol. $^1/_4$ mm. Deutliche Trübung des umgebenden Nährbodens, keine Gasbildung. Kol. in b $^1/_2$ mm, in c $^3/_4$ mm | Wie Ia |
| **Molkengelatineplatten** bei 20°. Kein Wachstum | 0,15–0,4 mm D. haltende Kolonieen, scharf begrenzt, kreisrund |
| **Peptonschottenagarplatten** bei 30°. Oberflächen- und Tiefenkolonieen von flockigem unregelmäßigen Aussehen, 0,2 mm D. | Wie Ia, nur sind die Kolonieen infolge der besseren Verdünnung bis 1,8 mm D. groß |
| **Milchzuckeragarstich** bei 30°. Von oben bis unten kräftig entwickeltes Wachstum, ohne Oberflächenausbreitung | Wie Ia |
| **Molkengelatinestich** bei 20°. Kein Wachstum | Aeußerst schwaches Wachstum |
| **Kartoffel** bei 30°. Spärliche, schmutzig-gelbe Auflagerung | Kein deutliches Wachstum |
| **Peptonschotte** bei 30°. Sehr starke Trübung. Kein Bodensatz, schwacher Oberflächenring, keine Decke. 8 Monate später, nach 8 Ueberimpfungen, ist kein Wachstum mehr zu konstatieren | Schwache Trübung, schwacher Ring, schwacher Bodensatz, sehr schwache oder keine Decke |
| **Nährbouillon** bei 30°. Nach 30 Stunden schwache Trübung, kein Ring, keine Decke, kein Bodensatz; nach 5 Tagen schwache Trübung, deutlicher Ring, deutliche Decke, kein Bodensatz | Wie Ia |

Mikroskopischer Befund.

| Stamm Ia. | Stamm Ib. |
|---|---|
| **Milchzuckeragar** (H. Sch.). Stäbchen 0,9—1 × 0,6—0,7 μ, zu zweien, vieren, auch in bröckelartigen Gruppen. Spitzchen nicht überall vorkommend | Stäbchen 1—1,2 × 0,8 μ; zu zweien, 4—8-gliederigen Kettchen auch gruppenweise angeordnet vorkommend; eigentliche Spitzchen nur bei den Doppelindividuen und bei den Endgliedern der Kettchen vorhanden. 8 Monate später, nach 8 Ueberimpfungen, sind die Kettchen verschwunden und man findet nur noch typische Doppelstäbchen mit Spitzchen |
| **Molkengelatineplatten.** Kein Wachstum | Meistens Doppelstäbchen mit Spitzchen 1,1—1,3 × 0,8—1 μ, auch einzeln, selten als Kettchen vorkommend |
| **Peptonschottenagarplatten.** Stäbchen zu zweien, auch als 4—6-gliederige Kettchen vorhanden, gewöhnlich 1,2 × 1 μ; einige Kettchenglieder sogar 2 × 1,25 μ mit kleinen Spitzchen | Wie Ia, nur sind die Spitzchen besser ausgeprägt |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| **Milchzuckeragarstich** zeigt auffallende Formen und Dimensionen. Stäbchen von 1—4 × 0,8—1,3 μ, einzeln, zu zweien, auch in Kettchen von 4—8 Gliedern angeordnet, keine eigentliche Spitzchen | Meist sehr typische Güntheri-Formen 0,8—1,2 × 0,6—0,9 μ |
| **Molkengelatinestich.** Kein sichtbares Wachstum | Nachdem der erste Stich äußerst schwaches Wachstum gezeigt, finden wir 8 Monate später, nach 8 Ueberimpfungen, in ziemlich kräftig entwickeltem Stich meist sehr typische Güntheri |
| **Kartoffel.** Stäbchen meist einzeln, von unregelmäßiger Form 0,7 × 0,5 μ, auch Doppelstäbchen mit Spitzchen 1,1 × 0,8 μ | Kein sichtbares Wachstum |
| **Peptonschotte.** Einzeln, zu zweien und in Kettchen von 4—10 Gliedern, hin und wieder mit deutlichen Spitzchen 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ | Typische Doppelstäbchen 1—1,2 × 0,8—0,9 μ. Keine Neigung zur Kettchenbildung |
| **Nährbouillon.** Stäbchen zu zweien, einzeln, auch gruppenweise angeordnet, 1,2 × 0,9 μ | Meist 6—8-gliedrige Kettchen. Zellen 0,8 × 0,7 μ, auch einige Doppelstäbchen vorkommend |
| **Milch bei 20°, 30°, 37°.** Typische Güntheri von 1—1,2 × 0,8—0,9 μ | Wie Ia |

(Folgt Tabelle I p. 476, 477.)

## II. Bacterium Güntheri aus Milch, die während 24 Stunden bei 20° aufgestellt war.

Die Isolierung der beiden Stämme erfolgte mittels Molkengelatineplatten in der bei den vorigen Stämmen angegebenen Modifikation.

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm IIa. | Stamm IIb. |
|---|---|
| **Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°.** In zweiter Verdünnung nur wenige, im Agarpfropf gleichmäßig verteilte Kolonieen von $^3/_4$ mm D. Keine Gasbildung | Schüttelkultur, von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, starke Trübung. Verdünnung b zeigt Kolonieen von $^1/_4$ mm D.; c solche von $^1/_2$ mm D., scharf konturiert |
| **Molkengelatineplatten bei 20°.** Kreisrunde, scharfbegrenzte Kolonieen von ca. $^1/_2$ mm Durchmesser | Wie IIa |
| **Peptonschottenagarplatten bei 30°.** Neben schwammig-flockigen Kolonieen auch kompakte, scharf begrenzte von bräunlicher Farbe und 0,4 mm Durchmesser | Meist unregelmäßig geformte, ziemlich scharf begrenzte, bräunliche Tiefenkolonieen von 0,2—0,4 mm Durchmesser |
| **Milchzuckeragarstich bei 30°.** Von oben bis unten sich gleich kräftig entwickelndes Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie IIa |
| **Molkengelatinestich bei 20°.** Ziemlich kräftiges, allerdings nicht überall homogenes Wachstum in der ganzen Länge des Stichkanals, ohne Oberflächenausbreitung | Wie IIa, nur etwas schwächer |
| **Kartoffel bei 30°.** Kein deutliches Wachstum | Kein deutliches Wachstum |
| **Peptonschotte bei 30°.** Starke Trübung, schwacher Ring, starker Bodensatz, keine Decke | Wie IIa |
| **Nährbouillon bei 30°.** Schwache Trübung und Bodensatz, schwach ausgebildeter Ring | Ziemlich starke Trübung und Bodensatz keine Decke und kein Ring |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Stäbchen meist zu zweien mit Spitzchen, auch einzeln, in 4-gliedrigen Kettchen und bröckelig angeordnet vorkommend, 1—1,2 × 0,7—0,8 μ | Stäbchen fast ausschließlich zu zweien angeordnet, mit sehr schönen Spitzchen versehen, 0,9—1 × 0,8—0,9 μ |
| Molkengelatineplatten. Wie oben | Wie oben |
| Peptonschottenagarplatten. Typische Doppelstäbchen mit sehr schönen Spitzchen, 1,1—1,3 × 0,7—0,9 μ | Wie IIa; 1 × 0,7 μ |
| Milchzuckeragarstich. Meist Doppelstäbchen mit Spitzchen; 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ; daneben auch 4—8-gliedrige Kettchen, deren Einzelglieder fast so lang sind als breit, 0,7 × 0,6 μ | Stäbchen einzeln, 1—2 × 0,9—1 μ haltend, auch Doppelstäbchen von 1—2 × 1—1,2 μ, hie und da mit Spitzchenandeutung und Spitzchen vorkommend. Auch diplokokkenartige Gebilde. 8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen typisches Kokken- und Diplokokkenbild; 1 × 1 μ; daneben auch plumpe Stäbchen |
| Molkengelatinestich. Sehr schöne Doppelstäbchen von 0,8—1,2 μ Länge neben 6—10-gliedrigen Kettchen, ohne Spitzchen | Neben kokken- und diplokokkenähnlichen Gebilden (0,7—0,7 × 0,8 μ) auch Doppelstäbchen von 1,2 μ Länge und 0,8 μ Breite, mit sehr schönen Spitzchen |
| Peptonschotte. Stäbchen zu zweien m. Spitzchen, 1,1—1,3 × 0,8—0,9 μ, häufig als 4—8-gliedrige Kettchen, 0,9—1 × 0,6—0,7 μ haltend; typische Spitzchen nur bei Zweizahl vorhanden | Meist Doppelstäbchen mit Spitzchen oder wenigstens Spitzchenandeutung; 0,8 × 0,6 μ; daneben auch einzeln und bröckelig angeordnet vorkommend |
| Nährbouillon. 4—10-gliedrige Kettchen, deren Einzelglieder kokkenähnlich aussehen, 0,8 × 0,7—0,9 μ, sehr unregelmäßig in der Gestalt, daneben auch Doppelstäbchen mit Spitzchen; 0,9—1 × 0,8 μ | Meist Doppelstäbchen mit sehr schönen Spitzchen, 0,7—0,8 × 0,5—0,6 μ, daneben auch Einzelindividuen von denselben Dimensionen, aber ohne Spitzchen |
| Milch bei 20, 30 und 37°. Stäbchen von 0,9—1,2 μ Länge und 0,8 μ Breite, einzeln, häufiger aber zu zweien und als 4—6-gliedrige Kettchen vorkommend | Einzel- und Doppelstäbchen m. sehr schönen Spitzchen von 0,8—0,9 × 0,6—0,7 μ |

(Folgt Tabelle II p. 478, 479.)

## III. Bacterium Güntheri aus Emmentaler Käse.

Die Isolierung dieser beiden Stämme war mit einigen Schwierigkeiten verbunden, indem wir eine ganze Reihe von Proben auf Güntheri untersuchten, ohne daß unsere Bemühungen von Erfolg begleitet waren. Und doch durfte die Anwesenheit dieses Bakteriums in der genannten Käsesorte erwartet werden, sind doch die bei der Käsefabrikation angewendeten Temperaturen nicht so hoch, um eine Abtötung sämtlicher Mikroorganismen herbeizuführen und scheint nach den Untersuchungen E. v. Freudenreichs (48) gerade diese Art wenigstens im jungen Käse in großer Zahl vorzukommen. Das Fehlen der Güntheri war denn auch lediglich darauf zurückzuführen, daß diese in den uns zur Verfügung stehenden Proben von relativ altem Käse aus hier nicht zu erörternden Gründen frühzeitig eingegangen waren. Wir benützten daher in der Folge 2 Tage alten Käse bezw. den Teil des sich noch unter der Presse befindenden Käselaibes, der infolge des großen Druckes zwischen Käsedeckel und Käsereif hervorgepreßt und mit dem Messer entfernt wird und isolierten daraus mit Hilfe von Milchzuckeragar (H. Sch.) zwei Güntheri-Stämme, die sich, wie aus den unten folgenden Angaben sich entnehmen läßt, in mehrfacher Beziehung interessant verhielten.

(Fortsetzung folgt.)

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Tabelle**

**Physiologisches Verhalten der Güntheri-Stämme**

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur

| Stamm Ia | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | |
| 20° | 12 Tage | Nicht geronnen | 1,3 | 12 Tage | Dünnflüssig geronnen | 8 | |
| 30° | 72 Std. | Fest geronnen | 8,1 | 74 Std. | „ „ | 6 | |
| 37° | 24 „ | Dünnflüssig geronnen | 7 | 64 „ | „ „ | 3,5 | |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 8 | |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 9 | |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der ge-

| Stamm Ia [1]) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Nicht berücksichtigt | Nicht berücksichtigt | 0,3 | 4,8 | 8,6 | 8,8 |
| Lävulose | | | 0 | 1,4 | 7,6 | 7,2 |
| Laktose | | | 3,4 | 5 | 5 | 5 |
| Maltose | | | 0,8 | 0 | 5,2 | 5 |
| Saccharose | | | 3,2 | 4,4 | 7,2 | 6,8 |
| Arabinose | | | 0,2 | 1,6 | 4,2 | 4,7 |
| Mannit | | | 0 | 0 | 3,8 | 4,4 |
| Glycerin | | | 0 | 0 | 0,8 | 0,8 |

1) Auffallen muß auf den ersten Blick der große Unterschied in den Säurezahlen, lediglich darin zu suchen, daß wir im ersten Falle mit einer, wie sich nachträglich aus einem kräftig wachsenden Stiche geimpft worden ist.

Generated on 2019-09-21 15:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

I.
aus einer bei 38° C aufgestellten Milch.
in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.

| Stamm Ib | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 7 Tage | Mit schwacher Serumabscheidung | 9,4 | 64 Std. | Dünnflüssig geronnen | 8,2 |
| 35 Std. | Ohne Serum fest geronnen | 8,9 | 24 „ | „ „ | 8 |
| 24 „ | Beginnende Gerinnung | 8,1 | 24 „ | „ „ | 5 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 6,4 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 5,5 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
impften Gläschen im 30°-Schranke.

| Stamm Ib | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Starke Trübung, starker flockig. Bodensatz | Kettchen, Doppelstäbchen bröckelig angeordnet | 7,5 | 7,6 | 8,2 | 8,4 |
| Lävulose | Flockig schmutziges Wachstum | Typisches Güntheri | 8,5 | 5,1 | 8 | 8 |
| Laktose | Relativ schwache Trübung, flockiger Bodensatz | Kleine Kettchen | 5,4 | 6,4 | 6,8 | 7,2 |
| Maltose | Griesig flock. Wachstum und Bodensatz | Zu Konglomeraten verschlungene Kettchen | 5,4 | 6,5 | 7,8 | 7,6 |
| Saccharose | Sehr starke Trübung, starker flockig. Bodensatz | Wie oben | 6,4 | 6 | 7 | 6,8 |
| Arabinose | Sehr schw. Wachstum | Schöne Güntheri | 0,2 | 1,2 | 0,6 | 0,8 |
| Mannit | Starke Trübung, starker flockig. Bodensatz | Bröckelig angeordnete Güntheri | 2,4 | 3,3 | 4,4 | 4,2 |
| Glycerin | Schwaches Wachstum | Sehr schöne Güntheri | 0,2 | 0 | 0 | 0 |

wie sie mit Fleischbouillon und Extraktbouillon erhalten wurden. Die Erklärung ist
herausstellte, stark degenerierten Kultur operierten, während die zweite Versuchsreihe

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri-Stämme aus

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm IIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säure-grad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säure-grad |
| 20° | 35 Std. | Fest geronnen | 11,5 | 64 Sdt. | Geronnen, noch etwas fließend | 9 |
| 30° | 15 „ | Noch etwas fließend | 11,1 | 64 „ | Ebenso | 7 |
| 37° | 14 „ | Schwache Serumab-scheidung | 11,6 | $4^1/_2$ Tag | Ebenso | 6 |
| | | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 7,4 |
| | | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 9,1 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm II a | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohle-hydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleisch-bouillon + Kohle-hydrat | | Zuckerfreie Extrakt-bouillon + Kohle-hydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trübung 3, kein eigent-licherBodensatz | Typ. Güntheri | 0,3 | 7,8 | 8,4 | 8 |
| Lävulose | Trübung 1, stark. griesig flockiger Bodensatz | Typ. Güntheri, z. T. in bröckelig. Gruppen, auch 8—10-gliedrig. Kettchen | 6,2 | 7,3 | 9 | 9 |
| Laktose | Diff. Trübung 3 | Typ. Güntheri | 2,1 | 2,8 | 3 | 2 |
| Maltose | Diffuse Trübung 1—2 | desgl. | 5 | 2,5 (9) | 8 | 8 |
| Saccharose | Diff. Trübung 1 | „ | 0,1 | 0,1 | 0 | 0 |
| Arabinose | Sehr spärliches Wachstum | „ | 0 | 1,3 | 1 | 1,6 |
| Mannit | Diff. Trübung 1 | „ | 0 | 0,3 | 0 | 0 |
| Glycerin | Diff. Trübung 1 | „ | 0 | 0 | 0,4 | 0 |

4 bedeutet sehr starke Trübung
3 „ „ „
2 „ schwache „
1 „ sehr „ „

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II.

**Milch, die während 24 Stunden bei 20° aufgestellt war.**
**Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.**

| Stamm IIb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 4 Tage | Noch fließend, aber geronnen | 11,2 | 64 Std. | Noch fließend, aber geronnen | 9 |
| 24 Std. | Feinflockig, gallertig geronnen | 8,2 | 24 „ | Ebenso | 7,8 |
| 24 „ | Gallertig geronnen | 10,1 | 17 „ | Fest geronnen | 7,4 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 6,1 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 8 |

**Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.**
**geimpften Gläschen im 30°-Schrank.**

| Stamm IIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diff. Trübung 4, starker flockig-schleim. Bodensatz | Typische Güntheri | 12,5 | 10,4 (11) | 11,4 | 11,2 |
| Lävulose | Wie oben, Trübung 3 | desgl. | 12,7 | 10,4 (13,4) | 12,2 | 12,4 |
| Laktose | Wie oben, Trübung 4 | „ | 5,7 | 6,9 | 6,4 | 6,6 |
| Maltose | Wie oben, Trübung 2 | „ | 6,2 | 7,2 | 8,4 | 8 |
| Saccharose | Diff. Trübung 2, schwacher schleim. Bodensatz | „ | 0 | 0 (1,5) | 0 | 0 |
| Arabinose | Sehr schwaches Wachstum | „ | 0 | 1,3 | 0 | 0 |
| Mannit | Diff. Trübung 3 | „ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | „ | „ | 0,2 | 0,4 | 1 | 1,2 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Aromabildende Bakterien in Milch.

Von **J. van der Leck,** Rotterdam.

(Fortsetzung.)

Unter den oben genannten Pflanzen kommen mehrere vor, die zugleich proteolytisch und gerinnend wirken. Die meisten anderen sind nicht auf beide Enzymwirkungen untersucht, so daß sie nicht als Beispiele von Einenzymwirkungen zu betrachten sind. Unter den von mir untersuchten Pflanzen habe ich öfters einen großen Unterschied in den Enzymquantitäten gefunden, so war bei Euphorbia lathyrus die gerinnende und proteolytische Wirkung sehr stark, dagegen war bei Asclepias syriaca neben einer sehr starken proteolytischen Wirkung eine Chymosinreaktion nicht oder schwach zu bemerken. Dieselbe Beobachtung können wir bei den verschiedenen Pankreas-, Magen- und Darmextrakten für Chymosin-Trypsin und Chymosin-Pepsin machen und war für den Untersucher Anleitung, eine Einenzymtheorie aufzustellen. Meine eigenen Untersuchungen führen mich zur Mehrenzymtheorie, und der letzte Zweifel wird durch die Versuche von Anderen ganz beseitigt. Vorher werde ich die Gesichtspunkte der Anhänger der Einenzymtheorie geben.

Pawlow und Parastschuck[1]) untersuchten unter verschiedenen Bedingungen die proteolytischen und milchkoagulierenden Wirkungen verschiedener Verdauungssäfte. Sie fanden, daß in den Fällen, wo die koagulierende Wirkung abnimmt, auch die proteolytische dasselbe Schicksal erfährt. Dasselbe parallele Verhältnis fanden sie auch bei Pankreassaft wieder. Weiter wurden beide Wirkungen gemessen und miteinander verglichen, wobei sie sich überzeugten, daß nicht nur ein Parallelismus zwischen beiden Wirkungen, sondern eine direkte Proportionalität besteht. Hierbei berechneten sie die Fermentmenge bei der gerinnenden Wirkung direkt nach der Gerinnungszeit, bei der proteolytischen aber nach den Quadraten der Verdauungszahlen. Sie fanden diese Proportionalität auch für den Saft des Pförtnerteiles des Magens und des Brunnerschen Abschnittes des Duodenums. Zum Schluß sagen sie: Wenn man jetzt noch daran festhalten wollte, daß beide Wirkungen von verschiedenen Fermenten ausgehen, im Organismus aber stets zusammen und zudem auch in denselben quantitativen Beziehungen angetroffen werden, so könnte man das nur aus althergebrachter Gewohnheit tun, für die sich gegenwärtig keine Rechtfertigung finden läßt. Die Wirkung des Labfermentes, die Milchkoagulation, ist eine spezielle, für den Experimentator nur zufällige Aeußerung einer allgemeinen Reaktion der Koagulation der Albumosen. Die Milchkoagulation stellt nur das einfachste Stadium der langen Reihe der Synthesen von Eiweißkörpern dar. Kasein und Parakasein sind sehr nahestehende Körper, nur das Molekül der zweiten Substanz ist komplizierter. Sie nehmen positiv an, daß beide Enzymwirkungen von ein und demselben Ferment ausgehen und sind nicht, wie Sieber, Nencki und Pekelharing, Anhänger des Riesenmoleküls.

---

1) Ueber die ein und demselben Eiweißferment zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte. (Z. Phys. Chem. Bd. XLII. 1904. p. 415.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sawjolow[1]) pflichtet diesem Grundgedanken völlig bei, stimmt aber in mancher Hinsicht mit diesen Untersuchern in ihren Schlußfolgerungen nicht überein. Er stellt sich drei Fragen:

1) Sind Pepsin und Chymosin nach den Methoden von Hammarsten isoliert darzustellen?

2) Gibt es verschiedenartige Regelmäßigkeiten, welche gegen die Einenzymtheorie streiten?

3) Wirkt Pepsin nur bei saurer, Chymosin auch bei neutraler und alkalischer Reaktion?

Die erste Frage ist nach ihm durch Pawlows Vermutung überflüssig geworden und zum Vorteil der Einenzymtheorie durch ihn gelöst. Zur Beantwortung der zweiten Frage machte er viele Versuche mit Magensaft, woraus er den Schluß zog, daß die Reaktionszeit bei Chymosin und Pepsin ganz und gar übereinstimmt. Er behauptet, daß der dritte Unterschied zwischen Pepsin und Lab nur ein scheinbarer ist, da Chymosin durchaus nicht bei neutraler Reaktion wirkt, weil Milch keine neutrale Flüssigkeit ist, sondern bekanntlich amphoter reagiert. Durch Dissoziation von Monokaliumphosphat sind darin auch die nötigen H-Ionen vorhanden. Zum Schluß sagt er: Nach den angeführten Versuchen bleibt kein wesentlicher Unterschied zwischen Pepsin und Chymosin übrig. Es würde also ein Wortstreit sein, ob wir die beiden Fermente mit einem oder mit zwei verschiedenen Namen bezeichnen. Es existiert in dem Magensaft nur ein einziges Ferment, welches beide Wirkungen, die proteolytische und die milchkoagulierende, hat. Dadurch bekommt auch das rätselhafte Vorhandensein von Chymosin im Magensaft von Fischen, Fröschen, in dem Pflanzenreiche u. s. w., überhaupt da, wo das proteolytische Ferment sich vorfindet, eine einfache Erklärung.

Ein Franzose ging noch weiter und verneinte eine koagulierende Wirkung. Er behauptete, daß die Umsetzung durch Lab von Kasein in Parakasein und Molkeneiweiß eine proteolytische Wirkung sei, wobei das eine niederfällt, während das andere in der Lösung bleibt. Diese Schlußfolgerung hat ein gewisses Verdienst, schade nur, daß Kasein nicht durch Lab gespaltet wird, da neulich gezeigt worden ist, daß die von Hammarsten vorangestellte Teilung in Parakasein und Molkeneiweiß nicht besteht.

Smidt Nielsen[2]) ist ein Anhänger der Mehrenzymtheorie und steht mit seiner Ansicht dem vorher genannten Untersucher direkt gegenüber. Er bringt einige ältere übersehene Beobachtungen von Hammarsten in Erinnerung. Dieser hat gezeigt, daß man durch Erhitzen eines sauren künstlichen Magensaftes während einiger Tage bei Körpertemperatur eine saure Pepsinlösung erhalten kann, die Eiweiß kräftig verdaut, nach der Neutralisation dagegen keine Labwirkung (oder nur eine geringe) ausübt. Smidt Nielsen fand bei seinen Untersuchungen diese Beobachtungen vollkommen bestätigt und ist infolgedessen Anhänger der Zweienzymtheorie. Weiter behauptet er, daß dem Pepsin bei saurer Reaktion unabhängig von dem Chymosin eine selbständige milchkoagulierende Wirkung zukommt. Den Beleg dafür dachte er folgender Weise zu liefern: Eine angesäuerte Infusion aus Kalbsmagen

1) Sawjolow, W., Zur Frage nach der Identität von Pepsin und Chymosin. (Z. Phys. Chem. Bd. XLVI. 1905. p. 307.)

2) Smidt Nielsen, Siqual, Ueber die vermeintliche Identität von Pepsin und Chymosin. (Z. Phys. Chem. Bd. XLVIII. 1906. p. 93.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde lange Zeit bei 40° C erhitzt und nach erfolgter Neutralisation wurde die Gerinnungszeit bestimmt. Diese Infusion wurde mit $M_1$ bezeichnet. Ein anderer Teil derselben sauren Infusion, der nicht erwärmt worden war, wurde ebenfalls neutralisiert und danach so stark verdünnt, daß er unter genau denselben Versuchsbedingungen, wie bei $M_1$, die Milch in derselben Zeit zur Gerinnung brachte; diese Infusion wurde mit $M_n$ bezeichnet. Die Lösungen $M_1$ und $M_n$ enthalten etwa dieselbe Menge Chymosin. Vorausgesetzt, daß diese beiden Lösungen nur ein einziges Enzym enthielten, hätte man zu erwarten, daß, wenn man die Lösungen auf denselben Säuregrad brachte, die proteolytischen Wirkungen und die Gerinnungszeiten gleich sein würden. Das war aber durchaus nicht der Fall. $M_1$ verdaute viel kräftiger und brachte viel schneller die Milch zur Gerinnung als $M_n$. Nennen wir die ursprüngliche Mageninfusion M, mit Chymosinwirkung c, proteolytische Pepsinwirkung in saurer Lösung p, koagulierende Pepsinwirkung in saurer Lösung k, also: M (c . p . k). In $M_1$ ist c sehr stark abgeschwächt: $M_1\left(\frac{c}{n}, p, k\right)$. $M_n$ ist n-mal verdünnte M, um die gerinnende Wirkung herabzusetzen: $M_n\left(\frac{c}{n} . \frac{p}{n} . \frac{k}{n}\right)$.

Bestand die koagulierende Pepsinwirkung nicht, so hätten $M_1$ und $M_n$ in saurer Lösung dieselbe Gerinnungszeit. Smidt Nielsen fand aber, daß $M_1$ viel schneller koagulierte als $M_n$, was für seine Theorie stimmt. Mir kommt es jedoch vor, als ob man aus solch einem Versuch nicht gleich auf die Existenz eines dritten Enzyms schließen darf. Es ist sehr gut möglich, daß das saure Pepsin die Wirkung des Chymosins unterstützt, dann muß auch Flüssigkeit $M_1$ schneller die Milch gerinnen als Flüssigkeit $M_n$. Erst wenn gezeigt werden kann, daß eine Pepsinlösung bei absoluter Abwesenheit von Lab diese koagulierende Wirkung in saurer Lösung ausübt, wird man dieser Theorie Glauben beimessen können.

Wichtige Belege für die Mehrenzymtheorie fand ich in den Versuchen mehrerer Untersucher. Vernon[1]) zeigte im Pankreassaft eine bestimmte Parallelität zwischen Chymosin und Trypsin an. Wie schon vorher gesagt, fand Baginsky in dem von ihm bereiteten Trypsin keine Labwirkung. Da er nicht angiebt, wieviel Zeit zwischen der Bereitung des Trypsinpräparates und der Untersuchung nach Lab vergangen ist, war wahrscheinlich sein Chymosin durch das Trypsin zerstört. Vergleicht man nämlich die Stabilität der verschiedenen Enzyme miteinander, so findet man, daß Trypsin Lab in alkalischer Lösung schnell vernichtet und Pepsin in saurer Lösung Trypsin, indem in alkalischer Lösung Pepsin nicht von Trypsin angegriffen wird. Diese Zerstörung des Labs durch das Trypsin ist ein Beleg dafür, daß es zwei Enzyme sind.

Roberts (R. G.) trennte Lab und Trypsin in folgender Weise: Ein Pankreas-NaCl-Extrakt wurde mit HCl schwach angesäuert und 3 Stunden bei 40° C erhitzt. Nach erfolgter Neutralisation war die proteolytische Wirkung vernichtet und zeigt die Flüssigkeit nur die Chymosinwirkung. Man kann also nicht daran zweifeln, daß Chymosin und Trypsin verschiedene Körper sind. Der schönste Beleg für den Unterschied zwischen Pepsin und Chymosin ist die Bereitungsmethode von Blumenthal, wobei man die Chymosin- und Trypsinlösungen nebeneinander bekommt. Blumenthal giebt an, daß er diese Scheidung auch mit Handelspepsin

1) Journ. of Physiol. 1903.

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ausgeführt hat. Durch Erhitzung von Parachymosin 2 Minuten lang bekam Bang[1]) eine pepsinfreie Lösung und durch Erhitzung während zweier Tage einer angesäuerten Pepsinlösung, wonach diese mit $CaCO_3$ neutralisiert wurde, bekam er ein Kalkpepsin, welches keine Milch koagulierte.

Als ich damals selbst die Arbeiten über die Einenzymtheorie durchsah, kamen mir diese Schlüsse sehr unwahrscheinlich vor, infolge der Resultate der Enzymwirkungen, die ich selbst fortwährend beobachtete. Wenn Chymosin identisch mit Pepsin wäre, so hätte in zwei willkürlichen Lösungen dieser beiden Enzyme das Verhältnis zwischen Chymosin und Pepsin immer dasselbe sein müssen, ungeachtet der vorhergegangenen Bearbeitung. Ich nahm Handelslab und Handelspepsin und bestimmte beider gerinnende Wirkung in Reagenzgläsern mit Milch. Ich fand für das Pepsin eine Gerinnungszeit, die 25mal geringer war, als für eine gleiche Menge Chymosin. Die genauen Zahlen findet man in folgender Tabelle:

| Verdünnung | Gerinnungszeit Chymosin | Gerinnungszeit Pepsin |
|---|---|---|
| $^1/_{50}$ | 2 Min. | 49 Min. |
| $^1/_{100}$ | 4 „ | 105 „ |
| $^1/_{150}$ | 6 „ | 140 „ |
| $^1/_{200}$ | 10 „ | 270 „ |
| $^1/_{500}$ | 25 „ | — |
| $^1/_{1000}$ | 50 „ | — |
| $^1/_{5000}$ | 260 „ | — |

In einem Wasserbad von 40° C wurden die Reagenzgläser, jedes mit 20 ccm Milch, gebracht. Nachdem sie die richtige Temperatur angenommen hatten, wurde die Lab- oder Pepsinlösung hinzugefügt, tüchtig durchgeschüttelt und der Zeitverlauf bis zum Anfange der Gerinnung aufgenommen.

Für eine größere Verdünnnng als $^1/_{200}$ konnte ich bei dem Pepsin die Gerinnungszeit nicht bestimmen, da 5—6 Stunden viel zu viel werden. Ich versuchte auch Milchagarplatten für diese Proben zu benutzen. Auf die Platten wurde von jeder Lösung $^1/_{20}$ ccm gebracht und nach 6 Stunden observiert. Die Labverdünnungen waren $^1/_{100}$, $^1/_{200}$, $^1/_{500}$, $^1/_{1000}$, die Pepsinverdünnungen $^1/_1$, $^1/_{10}$, $^1/_{25}$, $^1/_{50}$, $^1/_{100}$, $^1/_{200}$, $^1/_{500}$. Von den gebildeten Gerinnungsfeldern maß ich den Durchschnitt und nahm weiter an, daß ebenso große Felder durch gleiche Mengen Enzym gebildet sein müßten, und so fand ich die folgenden Vergleiche:

| Chymosin | | Pepsin |
|---|---|---|
| $^1/_{1000}$ | | $^1/_{50}$ |
| $^1/_{5000}$ | | $^1/_{200}$ |
| $^1/_{100}$ | schwächer als | $^1/_1$ |
| $^1/_{200}$ | stärker als | $^1/_{10}$ |

Wie man erwarten konnte, findet man auch hier ungefähr die Vergleichungszahl 25 und in vielen Fällen wird man dieser Methode, welche viel einfacher ist und fast keine Ueberwachung erfordert, vor der gewöhnlichen den Vorzug geben; die Beobachtungsfehler sind hier jedoch bedeutend größer.

Eine 25mal verdünnte Chymosinlösung gerann also ebenso stark, wie die Pepsinlösung, von diesen beiden Lösungen mußte also die proteolytische Wirkung auch ebenso stark sein. Die proteolytische Wirkung

1) Ueber Parachymosin, ein neues Labferment. (Pflügers Archiv. Bd. LXXIX. 1900. p. 425.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde nach Grützner mit Karminfibrin beurteilt und die Zeit bestimmt, um eine Farbe von gewisser Intensität zu bekommen. Das Wasserbad war hier auch auf 40° C erhitzt, die Verdünnungen mit einer Pipette in die Reagenzgläser gebracht, gut umgerührt und die Zeitdauer bestimmt. Der Säuregehalt war 0,1 Proz. HCl.

| Verdünnung | Chymosin | Pepsin |
|---|---|---|
| $^1/_{50}$ | — | 5 Stunden |
| $^1/_{100}$ | — | 10 „ |
| $^1/_{10}$ | 45 Stunden | 55 Minuten |
| $^1/_1$ | 4 „ | 5 „ |

Mit 25mal verdünntem Lab hatte das Probeglas noch nach 3 Tagen die gewünschte Färbung nicht angenommen. Dieselben Versuche wurden auch auf Milchagarplatten gemacht. Die Platten waren bis zu 7 N-Milchsäure angesäuert und ergaben ein weißes, undurchsichtiges Feld. Hierauf wurden nun $^1/_{20}$ ccm jeder Verdünnung gebracht und nach 6 Stunden das Lösungsfeld gemessen. Die Pepsinlösungen verursachten bis zu einer Verdünnung von $^1/_{100}$ klare Lösungsfelder, indem Lab die folgenden Resultate gab:

| | |
|---|---|
| Unverdünnte Lablösung | Klares Auflösungsfeld |
| 3mal verdünnte Lablösung | Schwächeres „ |
| 6mal „ „ | Sehr schwaches „ |
| 12mal „ „ | Fast kein „ |
| 24mal „ „ | Kein „ |

Obschon in diesem Falle dieser Versuch mehr als genügend ist, so verdient doch die flüssige Methode den Vorzug, da man hier beim Gebrauch von Platten keine scharfbegrenzten Felder bekommt. Wir haben jetzt gefunden, daß in der Labflüssigkeit die Gerinnungswirkung 25mal so stark als die proteolytische Wirkung ist und im Pepsinpräparat 50mal schwächer als die Pepsinwirkung.

Man kann dieselbe Probe mit dem Magensaft eines Kalbes selbst ausführen. Man zieht den Kalbsmagen mit 5-proz. NaCl aus, fällt das Chymosin mit festem Kochsalz und löst diesen Niederschlag in Wasser, man hat dann Flüssigkeit A, welche stark koagulierend und schwach proteolytisch wirkt. Den schon einmal ausgezogenen Magen zieht man mit 2-proz. HCl aus und hat nun die Flüssigkeit B, welche stark proteolytisch und schwach koagulierend wirkt; wie die Versuche ausgeführt werden, ist bekannt. Die Resultate sind in folgender Tabelle aufgenommen:

| Verdünnung | Gerinnungszeit A | Gerinnungszeit B | Verdünnung | Gerinnungszeit A | Gerinnungszeit B |
|---|---|---|---|---|---|
| $^1/_1$ | — | 2 Min. | $^1/_{100}$ | $8^1/_2$ Min. | 165 Min. |
| $^1/_{25}$ | 2 Min. | 40 „ | $^1/_{500}$ | 45 „ | — |
| $^1/_{50}$ | 4 „ | 85 „ | $^1/_{1000}$ | 95 „ | — |

A gerinnt also 20mal so stark als B.

Tabelle, betr. die Auflösungszeit zur bestimmten Farbenintensität.

| Verdünnung | Lösungszeit A | Lösungszeit B |
|---|---|---|
| $^1/_1$ | 3 Stunden | 10 Minuten |
| $^1/_5$ | 16 „ | 55 „ |
| $^1/_{10}$ | 32 „ | 105 „ |
| $^1/_{100}$ | — | 19 Stunden |

Dieselben Versuche auf gewöhnlichen angesäuerten Milchagarplatten gaben die folgenden Vergleichungen:

1. Gerinnungsfelder $^1/_{20}$ A = $^1/_1$ B
$^1/_{50}$ A = $^1/_2$ B
$^1/_{100}$ A = $^1/_5$ B

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | | |
|---|---|---|
| 2. Lösungsfelder | $^1/_1$ A $^1/_2$ A $^1/_{50}$ B | klares Feld |
| | $^1/_5$ A | schwaches Feld |
| | $^1/_{10}$ A | sehr schwaches Feld |
| | $^1/_{20}$ A | kein Feld |

Auch hier stehen Chymosin und Pepsin in ungleichen Verhältnissen einander gegenüber, so daß von einer Identität zwischen beiden Enzymen nicht mehr die Rede sein kann. Nach meiner Meinung ist die Enzymwirkung an spezielle Moleküle gebunden, welche vielleicht miteinander verbunden sein können. Das ist jedoch absolut unnötig und ist eine ganz andere Frage.

Bringt man auf eine Milchagarplatte eine Bakterie, welche die koagulierende und die proteolytische Wirkung gleich stark zeigt, so sieht man zuerst ein Gerinnungsfeld und erst nach einigen Stunden ein Lösungsfeld sich bilden, das sich allmählich ausbreitet. Schon nach einigen Tagen ist von einem Gerinnungsfeld nichts mehr zu sehen und man sieht nur die tryptische Wirkung. Erhitzt man jedoch solch eine Platte bei 50° C, so erscheint doch immer ein Gerinnungsband rings um das Lösungsfeld. Diese Beobachtungen gaben Anlaß, zu glauben, daß Chymosin schneller diffundiert als Trypsin. Wir können aber beweisen, daß die Diffusionsschnelligkeit in beiden Fällen gleich ist, daß jedoch das Chymosin seine Wirkung in viel größerer Verdünnung sichtbar machen kann als das Trypsin; dann muß man immer erst ein Gerinnungsfeld und nachher ein Lösungsfeld entstehen sehen. Man beweist die gleiche Diffusionsschnelligkeit in folgender Weise:

Man läßt in einer Milchagarplatte Pankreassaft diffundieren und bekommt so nach 4 Stunden ein ausgebreitetes Gerinnungsfeld und ein sehr kleines Lösungsfeld. Man schneidet nun ein Partikelchen Agar aus dem Gerinnungsfeld und legt es auf eine neue Milchagarplatte. Das Chymosin fängt sofort zu diffundieren an, und, wie wir erwarteten, bildet sich ein neues Feld; überdies entwickelt sich aber nach 5—6 Stunden ein Lösungsfeld. Im Agarstückchen, geschnitten aus dem reinen Gerinnungsfeld, war also schon Trypsin diffundiert.

Eine zweite Frage war, ob eine Bakterienkultur vielleicht zuerst Chymosin ausscheidet und später nur Trypsin, oder mit anderen Worten, daß das Chymosin durch das gebildete Trypsin vernichtet wird. Hierzu läßt man eine geeignete Bakterienkultur auf den Platten entwickeln. Sobald ein Lösungsfeld sich gebildet hat, wäscht man die Kultur von der Platte ab, schneidet ein Agarstückchen aus dem Lösungsfeld und bringt es auf eine andere Milchagarplatte. Wie immer, bildet sich hier erst ein Gerinnungsfeld. Wiederholt man diesen Versuch nach einer Kultur von 14 Tagen, so zeigt sich die vernichtende Wirkung des Trypsins und die koagulierende Wirkung ist sehr schwach geworden. Ist die Kultur sehr jung, so ist die gerinnende Wirkung des Stückchens, aus dem Lösungsfeld geschnitten, viel stärker als bei dem Stückchen, das aus dem Gerinnungsfeld genommen ist. Dieses ist also ein Beleg dafür, daß die Bakterien fortwährend Chymosin produzieren, so daß die größte Menge bei der Bakterienkultur selbst gefunden wird.

In den Fällen, wo man in dem Agarstückchen aus dem Gerinnungsfeld kein Trypsin anzeigen kann, wahrscheinlich durch zu geringe Konzentration, benutzt man mit Soda alkalisch gemachte Platten, da die Trypsinwirkung durch Alkali sehr verstärkt wird. Man kann nun zwei Methoden anwenden, um die gleiche Diffusionsschnelligkeit von Lab und Trypsin zu beweisen. Die eine ist, daß wir auf eine Milchagarplatte ein

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tropfen Lab-Trypsinmischung legen und die Grenze der Felder nach einer bestimmten Stundenzahl messen, wobei die Abmessungen umgekehrt eben symmetrisch mit der Konzentration sein müssen, worin die Enzyme ihre Wirkung noch ausüben. Eine andere Methode ist viel genauer, indem man schwach angesäuerte und stark alkalisch gemachte Milchagarplatten gebraucht. Hier sind die gebildeten Felder ansehnlich größer, da das Chymosin durch Säure, das Trypsin durch Milch unterstützt wird. Die Proben ergaben das folgende Resultat:

Die Temperatur war 40° C und die Felder wurden nach 24 Stunden gemessen. Die Zahlen, mit einem * versehen, sind durch Berechnung aus dem Felde nach 6 Stunden gefunden, da sonst die Schärfe viel zu wünschen übrig ließ. Mischung Handelschymosin und Pankreassaft. Menge $^1/_{10}$ ccm. Höhe der Agarschicht 3 mm.

| Gewöhnliche Platten | | Angesäuerte Platten | Alkalische Platten |
|---|---|---|---|
| Gerinnung | Auflösung | Gerinnung | Auflösung |
| *340 mm | 15 mm | *360 mm | *350 mm |
| *335 „ | 14 „ | *340 „ | *350 „ |
| *370 „ | 16 „ | *390 „ | *360 „ |

Nach 6 Stunden waren die Zahlen:

| | | |
|---|---|---|
| 85 mm | 90 mm | 87 mm |
| 84 „ | 85 „ | 87 „ |
| 93 „ | 97 „ | 90 „ |

Hierbei ist angenommen, daß die Diffusion regelmäßig verläuft. Wir sehen, daß wir gleiche Zahlen bekommen, wenn wir beide in einem ihr günstigen Medium beurteilen. Da auf einer Milchagarplatte schon nach $^1/_2$ Stunde nach dem Aufbringen der Lösung das Feld erscheint, kann durch die Säurebeimischung nur ein Teil davon ausgewonnen werden; weiter wirkt Lab schon in solch einer geringen Konzentration, daß wir hier wenig verschärfen können, wodurch sich die Messungszahlen auch sehr wenig veränderten. Trypsin jedoch bedarf in neutraler Lösung einer großen Konzentration, welche durch Alkali fast 22mal herabgesetzt wird. Durch eine flüchtige Berechnung finden wir dieselbe Konzentrationsverhältniszahl zwischen Lab und Trypsin. Chymosin wirkt in einer absoluten Konzentration von $\frac{1}{5000000}$. Ein ungefähr 5-proz. Enzym enthaltendes Trypsinpräparat verdaute Eiweiß in einer Konzentration von 0,08 Proz., also $\frac{20}{500000}$, so daß wir die Labwirkung in 20mal kleinerer Konzentration anzeigen können.

Diese Fragen, welche bei der Bakterienenzymuntersuchung auftreten, glaubte ich hier nicht ungelöst lassen zu dürfen, da die Versuche sehr einfach sind.

## § 3. Glukosidspaltungen zur Identifizierung von Bakterienarten.

Man wußte schon seit mehreren Jahren, daß verschiedene Bakterienterienarten im stande sind, durch geeignete Enzyme Glukoside zu spalten. Prof. Beijerinck[1]) in Delft schrieb das schon im Jahre 1900 bei der Besprechung der Indigofermentation. Das Glukosid, welches für diese Versuche gebraucht wurde, ist das Indikan, am besten zu bekommen aus den Indigo enthaltenden Sorten von Indigofera und Polygonum. Heutzutage sind diese Pflanzen und ihre Saat nicht mehr im Handel. Wünscht man Polygonum tinctorium selbst anzupflanzen (es kann in Europa wachsen), so kann man die Saat aus einem

1) Proceedings of the Section of Sciences. Koninklijke Academie van Wetenschappen Amsterdam. 3. 1900/01.

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Hortus in Japan kommen lassen. Diese Indikanproben wurden schon früher ausführlich beschrieben, sind aber leider unbeachtet geblieben, da ich die Eigenschaft der Indikanspaltung noch nie in einer Bakterienbeschreibung verzeichnet fand. Für diejenigen, welche diese Methode nicht verstehen, soll hier ein kurzes Resumé der oben erwähnten Arbeit gegeben werden.

Man bereitet sich das Indikan durch Extraktion von Indigofera oder Polygonum tinctorium mit kochendem Wasser, wobei man eine 0,5—1-proz. Indikanlösung bekommt. Durch das kochende Wasser werden die indikanspaltenden Pflanzenenzyme abgetötet; benutzt man im Gegenteil die Blätter von Phajus grandiflorus für die Indikanproduktion, so kann man die höhere Temperatur nicht verwerten, da hierbei das Indikan sehr schnell gespaltet wird. In diesem Falle muß man Enzymgifte gebrauchen, welche für das Indikan unschädlich sind, wie $Ca(OH)_2$ und $Ba(OH)_2$. Man zerreibt die Blätter mit Baryt, filtriert, leitet Kohlensäure durch und bekommt so eine reine Indikanlösung. Durch Verdampfen des Wassers erhält man hieraus das Indikanpulver, das in diesem Zustande lange Zeit haltbar ist. Die Kreide, welche mit dem Pulver vermischt ist, hat keinen nachteiligen Einfluß.

Für die Bakterienproben löst man ein wenig von dem Pulver in Fleischbouillongelatine oder -agar und gießt Platten daraus. Molisch[1]) war der erste, der Extrakt von Indigopflanzen in Agarplatten brachte, und damit die Indigoblaubildung durch Bakterien anzeigte.

Jedoch nicht alle Bakterien spalten das Indikan gleich leicht, und dessen kann man sich bei der Bakterienuntersuchung bedienen. Bei der Indikanspaltung[2]) bildet sich Indoxyl und Glukose, welcher Zucker als Nahrung für die Bakterien dient; das Indoxyl wird vom Sauerstoff der Luft zu Indigoblau oxydiert und dem verdankt die Reaktion ihren großen Wert, da sie jetzt zu einer Färbebestimmung zurückgebracht ist.

Bei diesen auf Agarplatten ausgeführten Enzymwirkungen muß man sich von der Tatsache Rechenschaft geben, daß nicht die Wirkung eines oder mehrerer Enzyme, welche durch verschiedene Bakterienkulturen produziert sind, immer in gleicher Weise verläuft. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, werde ich die verschiedenen Arten angeben, in denen die Enzymwirkung sich äußern kann.

Ferments solubles und insolubles, Zymasewirkungen, Katabolismus[3]), Auxabolismus. Eine Spaltung durch ein bestimmtes Enzym kann bei einer Bakterienart auxabolistisch, bei einer zweiten katabolistisch verlaufen, während bei einer dritten das Enzym in die Platte diffundiert (Ferment soluble).

Die erste Einteilung ist also die in Indikan spaltende und nicht spaltende Bakterien und die erstgenannte Gruppe wird nach der Art der Enzymwirkung weiter eingeteilt. Für das Indikan steht es fest, daß die Spaltung katabolistisch verläuft, die Wirkung ist aber so kräftig, daß das Indoxyl wieder aus der Zelle strömt und sich in der Platte als Indigoblau absetzt. Bei den meisten Hefearten und Pilzen ist die Spaltung viel schwächer, und bleibt das Indigoblau in der Zelle. Es ist zu hoffen, daß in zukünftigen Bakterienbeschreibungen die Indikanreaktion nie

1) Sitzung der Akad. d. Wissensch. zu Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CVII. p. 758.

2) $C_{14}H_{17}NO_6 + H_2O = C_8H_7NO_6 + C_6H_{12}O_6$
$2\,C_8H_7NO + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2\,H_2O$

3) Beijerinck, M. W., Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien, Ureumspaltung durch Urease und Katabolismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1901.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fehlen wird; hierdurch wird die Identifizierung vieler Bakterien sehr erleichtert. Die ausgezeichneten Resultate, die man mit diesem Glukosid erhält, waren die Veranlassung, die anderen Glukoside einer genauen Untersuchung zu unterwerfen. Bei diesen war jedoch eine Nebenreaktion wie die Indigoblaubildung nicht zu erwarten und ohne eine Verfärbung wird eine Analyse der Spaltungsteile viel zu schwierig. Das Amygdalin[1]) spaltet den Cyanwasserstoff mit seinem eigentümlichen Geruch ab. Dieses Gas verbreitet sich jedoch durch den ganzen Raum über die Kulturplatte, so daß man hier nur die Spaltung selbst bemerken kann, aber nicht, welche Kolonie die Spaltung bewirkt hat. Ein Glukosid läßt das Indikan noch weit hinter sich zurück: Das Aeskulin[2]) gibt als Spaltungsteil das Aeskuletin, welches mit Ferrisalzen sich von braun bis grün färbt. Diese Reaktion ist außerordentlich scharf. Die Hauptsache bei diesem Glukosid ist, daß Aeskulin nicht mit Ferrisalzen eine Färbung gibt.

Das Aeskulin findet sich in mehreren Pflanzen, ist aber am leichtesten aus der Kastanienrinde zu bereiten. Die Glukosidmenge wechselt mit den verschiedenen Jahreszeiten und man erhält die besten Resultate zwischen November und Januar, da dann die Enzymkonzentration am größten ist. Die getrocknete Rinde kann eine unbestimmte Zeitlang aufbewahrt werden. Hieraus ist das kristallisierte Glukosid zu bereiten; für die Versuche hat man nur eine sehr verdünnte Lösung nötig, welche nicht einmal von fremden Substanzen frei zu sein braucht. Das Rindenextrakt selbst ist zum direkten Gebrauch ungeeignet, da es große Mengen Tannin und Aeskuletin enthält. Eine Eisenlösung färbt diese Flüssigkeit von schwarz zu braun, von der Konzentration des Tannins abhängig, und sie ist natürlich für Färbereaktionen unbrauchbar.

Man zieht die Rinde mit heißem Wasser aus und fügt neutrales Bleiacetat hinzu, bis keine Präzipitation mehr stattfindet. Man dampft auf dem Wasserbade ein, fast trocken, schüttelt den Rückstand mit heißem Wasser und filtriert. Hierdurch sind das Tannin und viele andere Verunreinigungen größtenteils entfernt. Man fällt das überschüssige Blei mit $(NH_4)_2CO_3$-Lösung aus, filtriert und dampft auf dem Wasserbade ein, um das $NH_3$ verflüchtigen zu lassen. Sobald alles $NH_3$ entfernt ist, wird die Flüssigkeit schwach sauer. Dieser Sirup gibt, mit Wasser verdünnt, die Aeskulinlösung, welche wir für unsere Platten benutzen können, wenngleich auch noch fremde Bestandteile darin sind.

Neulich wurde in Delft eine neue Bereitungsweise eingeführt:

Man zieht die Rinde mit kochendem Wasser aus, filtriert und kühlt gut ab, nun löst man 1 Proz. $AlCl_3$ im Filtrat und fügt $(NH_4)_2CO_3$ hinzu, bis die Flüssigkeit stark alkalisch ist. Diese Mischung muß man in einem großen Kolben ausführen, da die Flüssigkeit stark schäumt. Nach Abklärung der Präzipitation filtriert man und verflüchtigt das überflüssige Alkali. Diese Aeskulinlösung ist absolut tanninfrei und enthält nur Spuren fremder Stoffe.

Man bestimmt die Konzentration der Lösung nach der Fluoreszenz in alkalischer Lösung; von einer tüchtig fluoreszierenden Lösung sind wenige Kubikcentimeter auf 25 ccm Nährgelatine genügend. Benutzt man das kristallinische Produkt, so fügt man 0,1 Proz. hinzu. Vom

---

1) $C_{20}H_{27}NO_{11} = 2\,C_6H_{12}O_6 + C_6H_5COH + HCN - 2\,H_2O$
$C_{20}H_{27}NO_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{14}H_{17}NO_6 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_6CO + HCN - H_2O$

2) $C_{15}H_{16}O_9 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_9H_6O_4$
$C_9H_6O_4 + FeCl_3$ = dunkelbraun

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ferricitrat nimmt man ein einziges Kristall, je weniger, desto besser, und gießt nun Platten von der Gelatine.

Es ist zu empfehlen, ein fast zuckerfreies Kulturmedium zu benutzen, da in Kulturplatten, welche viel Zucker enthalten, der für die Bakterien geeignet ist, die Aeskulinspaltung nicht oder nur sehr schwach stattfindet. Die spaltende Wirkung scheint am besten vor sich zu gehen, wenn die zu untersuchenden Bakterien sich nur auf diese Weise mit ihrer Zuckernahrung versehen können. Fleischbouillonpepton eignet sich am besten für die Spaltungsprobe. Je nachdem die Reaktion der Platte sauer oder alkalisch ist, färbt die Platte sich grün oder braun.

Eine dritte sehr wichtige Probe auf ein bestimmtes Bakterienenzym ist diejenige mit Tyrosin. Man kann Tyrosin sehr leicht selbst bereiten durch Verdauung von alkalischem Pepton mit Trypsin; allmählich kristallisiert das Tyrosin aus. Bringt man in eine Wasseragarlösung ein wenig Tyrosin und die unentbehrlichen anorganischen Salze, gießt eine Platte davon und bringt darauf den Bacillus tyrosinaticus, eine von Beijerinck gefundene Bakterie, so wird das Feld rings um diese Bakterie schwarz gefärbt. Die Färbung ist eine Oxydation, welche wir einem von der Bakterie gebildeten Enzym, der Tyrosinase, zuschreiben. Die Schwarzfärbung findet aus allen zu der Tyrosingruppe gehörigen Verbindungen statt, z. B. aus Milch, Kartoffeln, Kasein u. s. w. Die Annahme, daß verschiedene Bakterien diese Tyrosinoxydation ausführen könnten, war nicht zu gewagt, und hierbei waren hauptsächlich die Pigmentbakterien gemeint. Eine Untersuchung bestätigte dies vollkommen, nur war die Oxydation hier viel schwächer und blieb die Farbe rotbraun, anstatt schwarz. Hierdurch war wieder ein wichtiges Hilfsmittel zur Bakterienanalyse zu den schon bekannten gefügt.

Vor Beendigung dieses Abschnittes werde ich hier ein Beispiel von der großen Wichtigkeit geben, welche diese Methoden nicht nur für die Bakteriologie, sondern auch für die Botanik haben.

Zwei äußerlich fast nicht zu unterscheidende Milchsaftpflanzen, Euphorbia lathyrus und Euphorbia palustris, wurden untersucht. Der Milchsaft beider Pflanzen ist weiß, gleich dick und auch die Menge Satzmehl, welche beide Säfte enthalten, ist gleich groß. Von diesem Milchsaft wurden die Wirkungen auf die vorher beschriebenen Platten beobachtet, wodurch wir eigentlich auf ihre Enzyme reagierten.

1. Versuch auf einer neutralen Milchagarplatte: Euphorbia lathyrus sehr starke Gerinnung und Auflösung, stärker als Euphorbia palustris.

2. Versuch auf der alkalischen Milchagarplatte: Euphorbia lathyrus wirkt stärker proteolytisch als Euphorbia palustris.

3. Versuch auf der angesäuerten Milchagarplatte: Keine proteolytische Wirkung, welche mit dem Befunde bei anderen Pflanzen übereinstimmt.

4. Versuch auf der Aeskulinplatte: Beide Pflanzensäfte spalten das Aeskulin sehr stark, und diese Färbung ist sehr gut von der Tanninreaktion zu unterscheiden. Eine Untersuchung nach Tannin erwies, daß Euphorbia lathyrus-Milchsaft tanninfrei ist, Euphorbia palustris-Milchsaft im Gegenteil Tannin enthält.

5. Versuch auf der Tyrosinplatte: In kurzer Zeit macht Euphorbia lathyrus ein schwarzes Feld, indem der Saft von Euphorbia palustris noch nach Tagen seine milchweiße Farbe nicht verloren hatte.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei diesen Versuchen wurde weiter beobachtet, daß der Milchsaft dieser Pflanzen steril ist.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengefaßt, wobei die Versuche mit einem einzigen Wort angedeutet sind:

| | Euphorbia lathyrus | Euphorbia palustris |
|---|---|---|
| Gerinnung | + | + |
| Auflösung | + | + |
| Aeskulinspaltung | + | + |
| Tannin | — | + |
| Tyrosinase | + | — |

Ich glaube wohl, hierdurch den Beweis geliefert zu haben, daß diese Untersuchungen für die botanischen und bakteriologischen Analysen viel versprechen.

## Zweiter Abschnitt.

### Bacillus aromaticus.

In der Uebersicht, welche in der Einleitung von den Milchbakterien gegeben ist, findet man in der ersten Phase der Hauptflora die Gruppe der aromabildenden Bakterien. Das Aroma, welches sie in Milch bilden, hatte schon vor Jahren die Aufmerksamkeit von Beijerinck erregt. Ließ man Milch in dünnen Schichten mit Lab gerinnen, so verbreitete die Milch, als man sie bei Zimmertemperatur aufbewahrte, bald ein intensives spezifisches Aroma. Er schrieb dieses Aroma einer Bakterie zu, welche er Bacillus aromaticus nannte, und die proteolytisches Enzym produzierte. Nachdem die Aufmerksamkeit einmal auf dieses Aroma gerichtet war, wurde es oft bei Milchstreukulturen, die in Petri-Schalen auf Molkengelatine angelegt waren, wahrgenommen.

Schon bei dem sehr einfachen Versuche, Milch in einer Petri-Schale mit Lab zu gerinnen, bemerkt man, daß auch Milchsäurebakterien zur Entwickelung kommen, wodurch das Kulturmedium eine saure Reaktion gibt. Es ist klar, daß die Lebensbedingungen von Bacillus aromaticus in diesem sauren Medium verwirklicht sind. Jetzt mußte die Frage beantwortet werden, ob in versauerter Milch im allgemeinen Bacillus aromaticus mehr in den Vordergrund treten würde als andere Milchbakterien, die mehr ein alkalisches Medium beanspruchten. Im Spätsommer 1905 wurde diese Bakterie von mir von neuem untersucht, dabei fand ich aber, daß die Eigenschaft, Aroma in der Milch zu bilden, mehreren ganz verschiedenen Bakterien eigen war.

Es wäre sehr unwahrscheinlich, daß der Bacillus aromaticus, der sich durch solch ein Aroma unterscheidet, der Aufmerksamkeit anderer Untersucher entgangen sein sollte; ganz unbegreiflich würde es sein, wenn mehrere Bakterienarten ein und dieselbe Eigenschaft ausüben können. Darum habe ich nach Beendigung meiner Untersuchungen die Milchliteratur und was damit zusammenhängt, gewissenhaft studiert, fand jedoch nur zwei Abhandlungen, worin Bakterien beschrieben sind, die, nicht identisch mit meinem Bacillus aromaticus, doch zu derselben Gruppe der aromabildenden Bakterien gehören mußten. Es ist sehr eigenartig, daß Grimm der von ihm beschriebenen Bakterie denselben Namen gibt, wie er in Delft gewählt worden ist. Der Inhalt der beiden Abhandlungen folgt hier.

(Schluß folgt.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

# Ueber die Edamerkäsereifung.

[Mitteilungen aus dem bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Der VII. und XV. Band dieser Zeitschrift enthalten unsere Untersuchungen, welche bezweckten, einen besseren Einblick in die biologischen und chemischen Prozesse zu erhalten, welche sich während der Reifung im Edamerkäse abspielen. Die Hauptergebnisse dieser Versuche sind kurz zusammengefaßt die folgenden: Gleich von Anfang der Herstellung an tritt eine von echten Milchsäurefermenten hervorgerufene Milchsäuregärung ein, welche den Milchzucker vollständig zerstört und in Milchsäure umsetzt. Diese Milchsäure wirkt chemisch auf die Käsemasse ein, indem dabei freie Kaseine, saure Salze der Calciumphosphate und milchsaures Calcium entstehen. Sobald der Milchzucker verschwunden ist, treten die echten Milchsäurefermente in einen latenten Zustand ein, weil sie sich nur bei Anwesenheit dieses Kohlehydrates. entwickeln können. Infolge der alsdann eintretenden sauren Reaktion der Käsemasse sind verschiedene Mikroorganismen, welche ursprünglich in der Milch vorhanden waren, unfähig, sich weiter zu vermehren, und sterben ab. Uebrigens verbrauchen die Milchsäurefermente den ursprünglich in der Käsemasse anwesenden Sauerstoff und schaffen also einen anaëroben Zustand. Während dieser Periode der Reifung setzt man der Käsemasse eine bestimmte Menge Kochsalz zu, welches bakterizide Eigenschaft besitzt und also gleichfalls Einfluß ausübt auf die Bakterienflora im Käse, welche sich nachher entwickeln kann. Weil nun das erste Stadium der Reifung, die Milchsäuregärung, nur wenige Tage dauert und die Bildung des Käsegeschmackes etwa 3 Monate erfordert, wird eben die später zur Entwickelung kommende Flora eine Hauptrolle bei der Reifung spielen können.

Die Bedingungen, welchen diese Bakterien für ihre Existenz, und folglich zur Entfaltung ihrer Tätigkeit, genügen müssen, sind die folgenden:

1) ohne Sauerstoff leben zu können,
2) keinen Milchzucker für ihre Lebenserhaltung zu brauchen,
3) in einem sauren Medium wachsen zu können,
4) in einer stark salzhaltigen Umgebung zu leben.

Beim Isolieren dieses Mikroorganismus müssen diese Bedingungen streng ins Auge gefaßt werden und muß der Nährboden diesen Anforderungen entsprechen. Zur Herstellung dieses letzteren verwendeten wir einen normalen, also salzhaltigen, 6 Wochen alten Edamerkäse, welcher nach vorhergehender Reinigung vollständig zu Käsebouillon verarbeitet wurde, in genau derselben Weise, wie dies in unserer Abhandlung Bd. XV. p. 327 beschrieben wurde. Das Kondensieren der Bouillon auf Normalstärke geschah wegen der sauren Reaktion der Bouillon in einem Porzellanvakuum. Die Sterilisation dieser Bouillon konnte nicht durch Erhitzen auf 120° C vorgenommen werden, weil alsdann eine große Menge Eiweißkörper gefällt würden; fraktionierte Sterilisation auf 100° ist aus denselben Gründen unzulässig. Deswegen filtrierten wir die Bouillon durch eine Chamberland-Kerze. Diese hält freilich auch einigermaßen Eiweißkörper zurück, aber der Verlust jener Substanzen ist hier be-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutend geringer als bei der Erhitzung. Eine Berührung mit Metallgefäßen muß auch bei dieser Operation ausgeschlossen werden, daher war der übliche Adnetsche Druckapparat mit vernickeltem Halse unbrauchbar. Statt dessen benutzten wir ein Lampenglas, worin die Chamberland-Kerze mit einem durchbohrten Kautschukkorken festgesetzt wurde, derartig, daß der Kerzenmund an der Unterseite des Korkens ausragte. Der Raum zwischen Glas und Kerze enthielt die konzentrierte Bouillon, welche durch die Kerze filtrierte und in dem Behälter aufgefangen wurde. Der Behälter ist eine Glaskugel mit 3 Ansätzen, 2 diametral und der 3. parallel an einem dieser aufwärts stehend. Die beiden ersten dienen zum Zu- bezw. Abfließen der sterilen Bouillon, deshalb ist der aufwärts gerichtete mit der Chamberland-Kerze durch einen Vakuumschlauch, und der diametral angesetzte mit einer Abzughaube verbunden, gleichfalls mittels eines Kautschuklauches, welcher mit einer Klemmschraube abgeschlossen ist. Der 3. Ansatz bringt den Kugelinhalt in Verbindung mit einer Vakuumleitung, was die Filtration sehr befördert. Trotzdem braucht man zum Filtrieren von 150 ccm Bouillon 2—3 Tage. Es versteht sich, daß vorher die Kerze mit Glaskugel und Verbindungsstücken zusammen im Autoklaven sterilisiert wurde. Während der Filtration muß die Kerze an der Außenseite wiederholt gereinigt werden durch Abkratzen mit einem gebogenen Stück Blech. Hat man auf diese Weise eine genügende Menge Bouillon erhalten, so stellt man die Verbindung zur Vakuumleitung ab, stellt einen Quetschhahn auf den Vakuumschlauch zwischen Kugel und Kerze und durschschneidet den Kautschuk über dem Verschluß. Die gewünschte Menge steriler Käsebouillon kann jetzt sehr bequem der Kugel entnommen werden.

Wie früher schon gesagt wurde, eignet sich diese salzhaltige Bouillon nicht zur Herstellung eines festen Nährbodens mit Gelatine oder Agar, weil beide Stoffe infolge des hohen Salz- wie Säuregehaltes nicht gerinnen, und man ist also auf die Flüssigkeit als solche angewiesen.

Dieser Züchtungsmethode haftet aber der Mangel an, daß man absolut im Unsicheren bleibt über die Menge Bakterien, welche sich in der Impfmasse befindet; es genügt unter günstigen Bedingungen ja eine Bakterie zur Entfaltung einer üppigen Vegetation. Höchstens kann man nachher durch eine Plattenkultur sich orientieren über die Arten, welche sich in der Bouillon nebeneinander entwickeln. Es ist also möglich, daß man in der Käsebouillon eine starke Entwickelung hervorruft durch einige wenige Bakterien des Impfmaterials, welche an und für sich in dem festen Nährboden, dem Käse, keine bedeutende Rolle spielen können, weil da ihr Wachstum zu Kolonieen beschränkt ist.

Die Untersuchung der Käse auf Bakterien, welche unter Luftabschluß in Käsebouillon wachsen, geschah in folgender Weise: Die sterile Flüssigkeit wurde in Glasgefäße abgezapft, hergestellt aus einem Reagenzrohr (1,7 cm Weite), an dessen Boden wir ein Glasrohr (0,7 cm im Durchm. und 13 cm Länge) anbliesen. Das Reagenzrohr wurde 3,3 cm vom Ansatz ab ausgezogen und dort zu einem Boden aufgeblasen. Es entstand also ein cylindrisches Kölbchen mit langem schmalen Halse, welches wir kurz über dem Ansatze zum leichteren Abschmelzen nach der Behandlung einlaufen ließen. In dieser Weise genügte für eine Kultur eine verhältnismäßig geringe Quantität Bouillon. Nachdem die Kölbchen bis an die Einengung des Halses mit Käsebouillon gefüllt und geimpft worden waren, wurde der Hals bei der Einengung abgeschmolzen. Die Kulturen waren also von der Luft abgeschlossen und wurden jetzt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei 22° C hingesetzt. Nach etwa 12 Tagen trübt sich die Flüssigkeit infolge des Wachstums von Bakterien, welche nach und nach zu Boden sanken und dort einen deutlichen Bodensatz bildeten. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigen sich nur stabförmige Bakterien, welche bald zu einer, bald zu mehreren Arten gehören, was aus einer Untersuchung mittels Plattenkulturen auf Molkengelatine hervorgeht. Jeder Käse, welcher auf diese Weise untersucht wurde, enthielt ohne Ausnahme derartige Stäbchen; die Zahl der Arten war, wie gesagt, verschieden; das eine Mal erhielten wir 5 Arten, ein anderes Mal gab es nur eine Species, so daß sozusagen gleich eine Reinkultur erhalten wurde. Das Wachstum dieser Stäbchen in Milch und auf Molkengelatine war vorzüglich. In sterilisierter Milch bilden sie Milchsäure in sehr verschiedener Menge. Einzelne gerinnen die Milch innerhalb 10 Tagen, andere erst nach 14 Tagen, während wiederum andere sogar nach 3 Wochen bei 22° C keine Gerinnung der Milch hervorrufen. Eine 2 Monate alte Kultur eines solchen Stäbchens zeigte einen Säuregrad von 9,3 ccm normal pro 100 ccm; ein Peptonisieren des Kaseins konnte aber nicht konstatiert werden. Ihre fakultative Anaërobie geht hervor aus dem Gedeihen auf Molkengelatine und ihrem Wachstum in der Käsebouillon bei Luftabschluß. Dieses und ihre Neigung, Milchzucker in Milchsäure umzusetzen, aber den Milchzucker nicht absolut für ihre Existenz zu brauchen, gibt Veranlassung, sie bei den fakultativen Milchsäurefermenten einzureihen.

Zur Orientierung über die Verbreitung dieser stabförmigen Bakterien giebt die Untersuchung mit Bouillon keinen Aufschluß, wie oben schon gesagt wurde, und mußte also ein anderer Weg verfolgt werden, nämlich die mikroskopische Beobachtung des Käses als solchen. Sehr dünne Käseschnitte, in der Weise präpariert, wie in unserer vorigen Abhandlung beschrieben ist[1]), lehren, daß die übergroße Zahl der Kolonieen, welche man sieht, aus Diplokokken besteht, also echte Milchsäurefermente sind. Daneben findet man in jedem Käse Kolonieen stabförmiger Bakterien, jedoch, obwohl die Zahl in verschiedenen Käsen sehr verschieden ist, bleibt dieselbe meistens hinter der der Diplokokken weit zurück. Im großen ganzen kann man also sagen, daß die stabförmigen Bakterien wenig im Käse vorkommen. Die Versuchskäse, von denen unten die Rede sein wird, machen selbstverständlich eine Ausnahme, weil die Milch, welche diese Käse lieferten, vorher absichtlich mit derartigen Mikroorganismen geimpft worden war; sie sind also von Anfang an in großer Zahl anwesend, im Gegensatze zu den Verhältnissen in der Praxis, wo ihre Menge vom Zufall abhängig ist.

Die Wirkung derartig gezüchteter Stäbchen im Käse wurde studiert an aseptisch gemolkener Milch, welcher diese Bakterien und Milchsäurefermente zugesetzt wurden. Die Milchsäurefermente isolierten wir mittels Molkengelatine. Aus dem Protokoll dieser Versuche übernehmen wir folgendes:

4. Oktober 1905. Hergestellt 2 Edamerkäse aus ± 45 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS erhält die folgende Impfung: 1 Kölbchen Milch (40 ccm), ent-

1) Die Färbung der Schnitte gelingt vorzüglich mit eosinsaurem Methylenblau. Wir benutzen eine halbprozentige Lösung in Methylalkohol, verdünnen dieselbe auf dem Deckgläschen mit einer gleichen Menge Wasser und erhitzen das Präparat einige Zeit über einer kleinen Gasflamme. So erhält man dunkelblaue Bakterien; die Käse werden rot bis rotviolett.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haltend ein Milchsäureferment aus einem 2 Monate alten Käse, welches die Milch in 3 Tagen zur Gerinnung brachte; 3 Kölbchen Milch mit einer Art Stäbchen. Jedes Kölbchen enthält 40 ccm Milch; diese Kultur war 3 Wochen alt.

Die Stäbchen wurden in der oben beschriebenen Weise aus Käsebouillon isoliert. 3 Kölbchen Bouillon wurden mit einem 2 Monate alten, gut schmeckenden Käse geimpft. Nach 14-tägigem Stehen bei 22° C ist ein Bodensatz sichtbar und wird der Inhalt mit Plattenkulturen auf Molkengelatine untersucht. Nach ± 4 Tagen entstehen Kolonieen und es zeigt sich, daß 5 Arten Bakterien anwesend sind. Jede Art wird wiederum in Käsebouillon gebracht und bildet nach ± 9 Tagen einen Bodensatz. Von jedem Röhrchen wird abermals eine Plattenkultur auf Molkengelatine angelegt und, nachdem die Kolonieen aufgekommen sind (nach ± 4 Tagen), werden von jeder Schale 3 Kolonieen in 3 Kölbchen sterilisierte Milch gebracht, welche für die Impfung des Versuchskäses zur Verwendung kommen. Das Wachstum in Käsebouillon war für die 5 Arten einigermaßen verschieden, einige wuchsen schneller wie die anderen. Der Käse vom 4. Oktober enthielt die Art, welche sich am stärksten in der Bouillon vermehrte; in der Milch war die Säurebildung aber so gering, daß nach 3 Wochen bei 22° keine Gerinnung eingetreten war.

Am 23. März 1906, also nach $5^1/_2$ Monaten, wurden beide Käse untersucht. Der Kontrollkäse war unverändert geblieben. Der Versuchskäse MS war geschmeidig, machte augenscheinlich den Eindruck eines guten Käses, aber es fehlte der Käsegeschmack und Käsegeruch.

11. Oktober 1905. 2 Käse, aus ± 45 l aseptisch gemolkener Milch hergestellt, mit den Marken C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dasselbe Milchsäureferment wie der Käse vom 4. Oktober (1 Kölbchen mit 40 ccm Kultur) und eine zweite Art Stäbchen der oben beschriebenen Isolierung (2 Kölbchen mit je 40 ccm Kultur) in Milch. Diese Art entwickelte sich weniger gut in Käsebouillon wie die vorige, aber gut in der Milch. Dieselbe gerann schon nach 10 Tagen.

Am 23. März 1906, also nach $5^1/_2$ Monaten, wurden beide Käse untersucht. Der Kontrollkäse C war unverändert geblieben. Der Versuchskäse MS war gleichfalls augenscheinlich gereift, zeigte aber weder Käsegeruch noch Käsegeschmack.

20. Oktober 1905. Bereitet von 45 l aseptisch gemolkener Milch 2 Käse, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS bekommt dasselbe Milchsäureferment wie die beiden vorigen MS-Käse (1 Kölbchen) und eine dritte Art Stäbchen, aus der oben beschriebenen Isolierung (3 Kölbchen) stammend. Diese Art vermehrte sich in Käsebouillon weniger gut wie die erste, aber ziemlich gut in der Milch, welche nach 14 Tagen geronnen war.

Am 23. März 1906, also nach 5 Monaten, wurden die Käse untersucht. Der Kontrollkäse war unverändert geblieben. Der Versuchskäse MS zeigte weder Käsegeschmack noch Käsegeruch.

25. Oktober 1905. 2 Käse, hergestellt aus 43 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dasselbe Milchsäureferment wie der Käse vom 4. Oktober (1 Kölbchen) und eine vierte Art Stäbchen aus der obenbeschriebenen Isolierung (3 Kölbchen). Die Stäbchen wuchsen ebenfalls weniger gut als dieselben vom 4. Oktober in Käsebouillon, aber gut in der Milch. Diese war aber nach 23 Tagen nicht geronnen.

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Am 25. März 1906, also nach etwa 5 Monaten, wurden beide Käse untersucht. Der Kontrollkäse ist unverändert geblieben. MS ist scheinbar reif, es fehlt ihm aber Käsegeschmack und Käsegeruch.

1. November 1905. 2 Käse, hergestellt aus ± 48 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dasselbe Milchsäureferment wie der Käse vom 4. Oktober (1 Kölbchen) und eine fünfte Art Stäbchen, herstammend aus derselben Isolierung. Die Entwickelung dieses Stäbchens war gleichfalls weniger gut als die desjenigen vom 4. Oktober, aber gut in der Milch, welche nach ± 10 Tagen geronnen war.

Am 23. März 1906, also nach $4^3/_4$ Monaten, wurden beide Käse untersucht. C ist unverändert geblieben. MS scheint gereift, besitzt aber weder Geschmack noch Geruch des Käses.

Mit diesem letzten Versuche waren die 5 verschiedenen Stäbchenarten, welche in dieser Serie isoliert worden waren, jeder für sich, zur Prüfung angesetzt worden, und es konnte also eine zweite Serie begonnen werden, welche die Resultate der ersten unterstützen sollte. Am 21. Oktober 1905 wurden 5 Röhrchen mit Käsebouillon gefüllt und mit einem guten, 3 Monate alten Käse geimpft. Am 30. Oktober ist ein Bodensatz von Bakterien entstanden, die Röhrchen werden geöffnet und Oberflächenkulturen auf Molkengelatine angelegt. Am 3. November sind die Kolonieen gut aufgekommen und machen den Eindruck, als ob nur eine einzige Art vertreten ist. Von jeder Platte wird eine Kolonie wiederum in Käsebouillon gebracht. Am 13. November enthalten die Röhrchen einen bakteriellen Bodensatz, welcher auf Molkengelatine untersucht wird. Diese Kulturen sind am 17. November aufgekommen und dient jede zur Impfung von 3 Kölbchen steriler Milch.

29. November 1905. 2 Käse, hergestellt aus ± 48 l aseptisch erhaltener Milch, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS bekam ein Milchsäureferment, mittels Molkengelatine aus einem 15-tägigen Käse isoliert (1 Kölbchen), und eine Stäbchenkultur, von der Isolierung vom 17. November herrührend (3 Kölbchen in Milch). Die Milchkulturen waren nicht geronnen.

Am 23. März 1906, also nach etwa 4 Monaten, wurden die Käse untersucht. Es zeigte sich, daß C unverändert geblieben ist. MS ist augenscheinlich reif, doch fehlt ihm Käsegeschmack und Käsegeruch.

6. Dezember 1905. 2 Käse, hergestellt aus ± 50 l aseptisch gemolkener Milch, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dasselbe Milchsäureferment wie der Käse vom 29. November (1 Kölbchen) und eine ähnliche Stäbchenkultur vom 17. November (3 Kölbchen). Die Milchkulturen sind nicht geronnen.

Am 23. März 1906 wurden die Käse untersucht. C ist unverändert geblieben. MS ist scheinbar gereift, aber es fehlen Käsegeschmack und Käsegeruch.

13. Dezember 1905. 2 Käse, aus ± 50 l aseptisch gemolkener Milch bereitet, gezeichnet C und MS. C ist ein Kontrollkäse.

MS enthält dasselbe Milchsäureferment wie der Käse vom 6. Dezember und dasselbe Stäbchen vom 17. November (3 Kölbchen). Die Milchkulturen waren nicht geronnen; die Milchsäurebildung war also nach 26 Tagen nicht ausreichend dazu.

Am 23. März 1906, also nach $3^1/_2$ Monaten, wurden die Käse untersucht. C ist unverändert geblieben. MS sah augenscheinlich einem reifen Käse ähnlich; Käsegeschmack und Käsegeruch fehlten aber.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Betrachten wir jetzt die Ergebnisse dieser Untersuchung, so fällt uns gleich auf, daß unter dem Einfluß der besonderen Nahrungsverhältnisse, welche im Käse herrschen, nur einzelne Arten stabförmige Bakterien sich entwickeln können. Diese Bakterien gehören ohne Ausnahme zu den fakultativen Milchsäurefermenten, einen Ausdruck, dessen Deutung wir oben auseinandersetzten. Wenn die Käsereifung aufgefaßt werden muß als die Folge der Lebenserscheinungen der Mikroorganismen, so können nur diese Bakterien den biologischen Prozeß in dem Käse hervorrufen, weil nur Mikroorganismen, welche sich vermehren, Lebensäußerungen zeigen. Aus den Versuchen geht aber hervor, daß keine wesentliche Reifung infolge des Zusatzes dieser Bakterien eintritt; zwar zeigen alle Käse, MS gezeichnet, augenscheinlich Reifung, d. h. sie sind geschmeidig und geben beim Anschneiden den eigentümlichen Aspekt eines reifen Käses, aber Käsegeschmack und Käsegeruch fehlen durchaus.

Die stabförmigen Bakterien verursachen also nicht die Reifung; welchen Anteil sie an dem Geschmeidigmachen der Käse haben, muß dahingestellt bleiben, weil auch in Käsen, welche den Fehler „kort" (holl., kurz) zeigen, diese Stäbchen angetroffen werden. Mit dem Ausdruck „kort" wird eben eine fehlerhafte Reifung angedeutet; anstatt der plastisch geschmeidigen Masse mit gleichmäßigem Aussehen eines normalen Käses erhält man alsdann ein mehr oder wenig kreideartiges, buntes, bröckeliges Produkt.

Das Resultat unserer bisherigen Untersuchungen über die Edamerkäsereifung kann also in folgendem zusammengefaßt werden. Sobald der Käse bereitet ist, findet eine intensive Milchsäuregärung statt, welche den Milchzucker zum Verschwinden bringt. Ist dieses Ziel erreicht, so gehen die Milchsäurefermente in einen latenten Zustand über und werden nachgefolgt von einer Bakterienflora, bestehend aus stäbchenförmigen Mikroorganismen, welche zugleich das letzte Glied in der Kette der biologischen Prozesse bilden, welche sich im Käse auftun. Die Umsetzungen, welche infolgedessen entstehen, genügen aber nicht zur Entstehung des Käsegeschmackes und Käsegeruches. Hieraus geht hervor, daß man die Ursache der Käsereifung, wenigstens beim Edamerkäse, nicht suchen darf unter den Lebensprozessen, welche während und nach der Milchsäuregärung auftreten, aber unter denjenigen, welche vorher sich abspielen. Es ist eine längst bekannte Tatsache, daß die Milch während und nach der Gewinnung einer sehr großen Infektion ausgesetzt ist. Die Milchdrüsen sondern sie zwar unter normalen Verhältnissen in sterilem Zustande ab, aber schon in den Milchkanälen des Euters fängt die Infektion durch die nie fehlenden Bakterien an. Die größte Invasion findet aber während des Melkgeschäftes statt. Weil die Milch dabei in Berührung kommt mit einer großen Zahl infizierter Körper, werden eine Unmasse Mikroorganismen eingetragen, welche von der Haut der Kuh, der Luft, den Händen des Melkers, Gefäßen u. s. w. herrühren. Namentlich die der Haut liefern nicht unbeträchtliche Beiträge zu der ursprünglichen Flora; beim Melken erleidet die Haut des Euters ja eine ziemlich starke Bewegung und es trennen sich viele Hautschuppen ab, welche in den Milcheimer gelangen, und wird also die Milch mit den zahllos anhaftenden Bakterien infiziert. Unter jenen Bakterien gibt es verschiedene, welche ein proteolytisches Enzym absondern, und deswegen trifft man in einer Plattenkultur auf Molkengelatine, welche mit frischer Milch geimpft wurde, immer eine große Zahl verflüssigender Kolonieen an. Bei der Bereitung des Käses werden diese

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien darin aufgenommen und bleiben so lange lebensfähig, bis die Milchsäurefermente ihrer Entwickelung entgegenstehen und sie schließlich abtöten, weil eine Existenz in saurer Umgebung für sie unmöglich ist. Die gebildeten proteolytischen Enzyme bleiben aber und können allmählich die Umsetzungen hervorrufen, welche den eigentümlichen Geschmack und Geruch verursachen. Nach dieser Anschauung würde die Käsereifung also die Folge einer Enzymwirkung, kombiniert mit einer Milchsäuregärung, sein. Weitere Untersuchungen müssen entscheiden, inwieweit diese Annahme richtig ist.

---

*Nachdruck verboten.*

# Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées.

Par **Paul Cruchet.**

Avec 5 figures, 5 diagrammes et 1 planche.

(Suite.)

3. F. sp. sur Mentha arvensis (plusieurs provenances).

Urédos comme ceux de M. longifolia; cependant la forme ovale est un peu plus fréquente.

Téleutospores à verrues très peu visibles (plus visibles dans l'eau) sauf sur les bords. Couleur brun foncé comme sur M. longifolia.

4. F. sp. sur Mentha aquatica (plusieurs provenances).

Urédos un peu ovales et mesurant (d'après 200 spores) 17—22 sur 20—29 $\mu$, avec un maximum de spores pour 20 : 24 $\mu$.

Téleutospores claires et très verruqueuses, à verrues grosses et assez rapprochées. Amas rarement sur les tiges.

5. F. sp. sur Satureja Clinopodium (plusieurs provenances).

Urédos comme ceux de M. aquatica.

Téleutospores plus claires et très verruqueuses.

6. F. sp. sur Satureja Calamintha ssp. silvatica (une seule provenance).

Urédos encore comme pour M. aquatica.

Téleutospores semblables à celles de Sat. Clinopodium, mais il semble cependant qu'elles sont moins fortement verruqueuses.

7. F. sp. sur Satureja Calamintha ssp. Nepeta var. Nepetoides (une seule provenance).

Urédos plus ou moins ovales, mais plus ovales que ceux des formes écédentes.

Téleutospores foncées (comme sur M. longifolia) et assez fortement verruqueuses.

8. F. sp. sur Satureja acinos et alpina (Ur. de plusieurs provenances).

Urédos ovales mesurant 15—24 : 18—31 $\mu$; ils sont encore plus allongés en général que ceux de la forme 7.

Téleutospores claires comme celles de M. aquatica, mais



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verrues beaucoup moins fortes. (Je n'ai pas vu de spores autres que celles de l'essai 38).

Evidemment ces 8 formes de P. Menthae ne sont pas les seules; ainsi sur Origanum vulgare il doit exister aussi une forme indépendante (trouvée en Suisse) puisque cette plante n'a jamais été atteinte dans aucun des essais.

## Chapitre 3.

### Diverses remarques sur le développement de P. Menthae.

Les téleutospores, après avoir passé l'hiver dehors germent au printemps. Après un séjour de 12 h. en chambre humide, même moins, on voit surgir de chaque pore germinatif une baside qui s'allonge rapidement et prend la forme d'un boudin arqué; elle se divise en 4 et chaque compartiment donne rapidement naissance à une basidiospore qui se détache difficilement (Fig. 1).

Pour qu'une téleutospore puisse germer il faut qu'elle soit dans l'eau et non simplement dans l'air humide.

La faculté germinative se développe à Payerne (Alt. 445 m.) en janvier déjà et se perd vers le commencement de juin. Une sécheresse prolongée en hiver paraît la détruire assez complètement[1]).

Les aecidies apparaissent très tôt sur les petites pousses, et s'agrandissent ensuite par le développement de la plante hôtesse. Elles apparaissent après une période d'incubation qui a varié de 10 à 25 jours.

Les urédos se succèdent par générations successives et ce n'est qu'à partir du milieu d'août que l'on commence à voir des téleutospores. La germination s'effectue bien dans l'eau pure (Fig. 1) où ils donnent

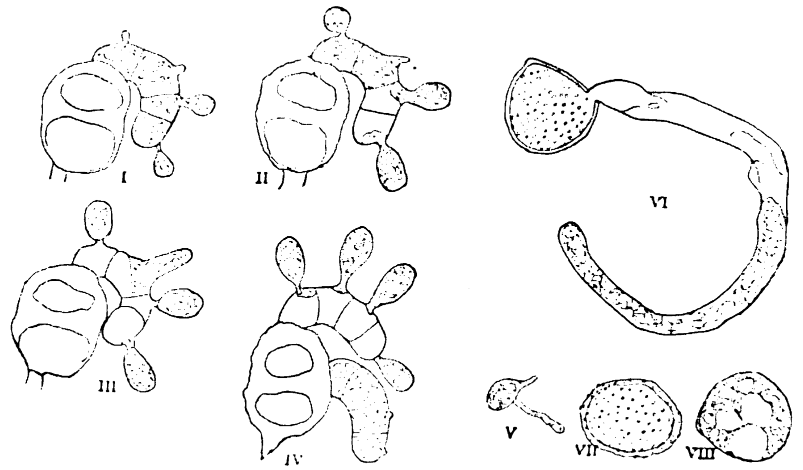



Fig. 1. Pucc. Menthae Pers. I. Germination d'une téleutospore de Mentha longifolia; dessinée à 8 h. matin après 13 h. de chambre humide. II et III, la même à 8 h. $^{3}/_{4}$, puis à 10 h. IV. Spore avec 2 basides formées. V. Basidiospore germant. VI. Urédo de M. longifolia en germination. VII. Urédo de M. aquatica germé et laissant voir nettement les verrues. VIII. id. non germé. Gr. 500.

1) Ces indications sont le résumé d'essais de germination faits en 1904 avec des matériaux provenant de M. longifolia et arvensis, et en 1905 avec des spores de Satureja Calamintha et de M. viridis.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

naissance à des tubes de près d'1 mm de long. La faculté germinative se conserve pendant une partie de l'hiver; ainsi en 1904, parmi des spores récoltées en février (essai 1), un urédo a parfaitement bien germé sur porte-objet; plus tard le fait ne se reproduisit plus. De même, en 1905, le 15 janvier, j'ai pu faire germer, par 10°.C. de chaud environ, une assez grande quantité d'urédos de M. viridis.

Les téleutospores naissent, soit mélangées aux urédos, soit en amas indépendants comme c'est le cas dans les essais. Très caduques, une grande partie de ces spores tombent à terre pendant l'hiver, et là elles seront prêtes à infecter les jeunes pousses au moment de leur sortie le printemps suivant. Si elles tombent dans l'eau, elles pourront être entraînées et propageront la maladie plus loin.

De toutes les formes de spores ce sont les urédos qui agissent le plus pour la propagation de la maladie. Ils apparaissent en effet au moment où les insectes viennent en très grande abondance butiner sur les fleurs et les feuilles. Les aecidies, en général cachées par les pousses voisines, ne peuvent agir que dans leur voisinage immédiat, comme j'ai pu le constater plus d'une fois. Le fait d'être cachées, de se trouver sur de toutes jeunes pousses et en général au niveau du sol, rend les aecidies assez difficiles à voir, et c'est probablement pour cela qu'elles n'ont pas été signalées sur plus de plantes; l'on pourrait ainsi être tenté de penser que certaines formes sont des Brachypuccinia, ou que du moins l'aecidie n'est pas toujours nécessaire à la propagation de la maladie, comme le font supposer MM. Sydow (voir la citation p. 3). Une seule des plantes mises en essai, Satureya hortensis, a paru présenter partiellement ce phénomène de passage direct de la téleutospore à l'urédo et cela dans les essais 5, 16 et 21 (voir ceux-ci). Satureya alpina et acinos n'ont donné, comme il a été dit (essais 36—38), que peu ou pas de téleutospores, surtout l'acinos dont j'ai vu des exemplaires mûrs et secs, couverts d'urédos seulement; il semblerait qu'ici l'urédo puisse conserver sa faculté germinative et suffire pour perpétuer le parasite.

## Chapitre 4.

## Effets biologiques observés chez les plantes hôtesses.

D'une manière générale le mycélium de Pucc. Menthae n'a que peu d'influence sur les plantes hôtesses.

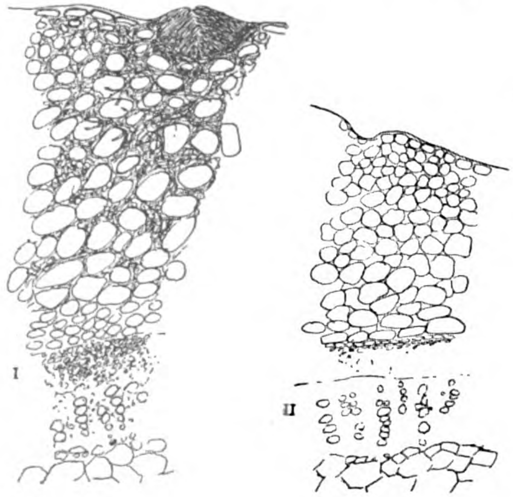



Fig. 2. Déformations produites par le mycelium aecidien de Pucc. Menthae. I. Coupe transversale de tige de M. longifolia montrant les cellules du parenchyme cortical écartées par le mycelium, et l'endoderme déformé; en haut une pycnide. II. Portion saine prise à titre de comparaison dans la même coupe et diamétralement opposée à I. La parenchyme cortical seul a été exactement dessiné. Gr.: 75.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Résumé général des essais faits en 1904**

Explication des signes: — résultat nul; • résultat douteux ou insuffisant; + résultat positif: téleutospores; m plante morte pendant

| Plantes en essai | Spores de Mentha longi- | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Téleutospores | | | | | Aecidiospores | | | |
| Nos. des essais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Dates de la mise en train des essais | 26 IV. 1904 | 5 V. 1904 | 13 V. 1904 | 18 V. 1904 | 12 V. 1905 | 11 V. 1904 | 7 VI. 1904 | 5 et 6 VII. 1904 | 26 V. 1905 |
| Durée approx. de l'incubation | — | 12 j. | 10 j. | 17—20 j. | 16 j. | 15 j. | 11 j. | 17 j. | 15 j. |
| Mentha longifolia Huds., Corcelles | | + | +! +! | + | | ++ | ++ | | |
| „ „ „ Wabern (Berne) | | | | + | | | | | |
| „ „ „ Montagny | | + | + | | | + | | — + | |
| „ „ „ Payerne | | | | | + | | | | — |
| „ „ „ St. Pétersbourg | | | | m | | | | +! | |
| „ „ var. crispa, S. | | | | | | | | | |
| „ alpigena[1]), S. | | | | +! | + | | | | |
| Mentha hybrides[1]) rotundifolia × longifolia No. 1, S. | | | | +! | + | | | + | |
| „ 2, S. | | | | + | | | | | |
| „ 3, S. | | | | + | | | | | — |
| „ 4, S. | | | | m | | | | + | — |
| Mentha rotundifolia, S. Vienne | | | | +! | + | | | + | |
| M. viridis L. var. piperella Lej., J. bot. Berne | — | | — •[3]) | — — | | ++ | | | — |
| „ „ „ „ „ „ S. Paris | | | | | — | | | • | — |
| „ „ „ „ „ „ S. Montpellier | | | | | + | | | + | — |
| „ „ „ „ crispata Schrad., Corcelles | -- | | | •[2]) | | | m | | +[3]) |
| „ „ „ „ „ „ Berne | | | | | | | | | |
| Mentha arvensis L., Berne | | | | | | | | — | |
| „ „ „ Montagny | | | — | | | — | — | | |
| „ „ „ Payerne | | | | | — | | | | — |
| „ „ „ var. parietariaefolia[1]), S. | | | | +!! | | | | | |
| × Mentha verticillata L., Payerne | | | | | | | | | |
| Mentha aquatica L., Berne (Dahlhölzli) | | • | — | — | | — | — | | |
| „ „ „ „ (Selhofenmoos) | | | | — | | | | | |
| „ „ „ „ (Gürbe) | | | | | | | -- | | |
| „ „ „ „ (Wabern) | | | | — | | | — | | |
| „ „ „ Yverdon | | | | | | | | — | |
| „ „ „ Payerne | | | | | — | | | | |
| „ „ „ S. de Paris | | | | | | | | | |
| × Mentha dumetorum Schult. var. Nepetoides | | | | | | | | | |
| × Mentha piperita L. var. officinalis, S. de Paris | | | | | | | | • | |
| „ „ „ „ citrata Ehrh. | | | — | | — | — | | | — |
| Mentha pulegium | | | | | — | | | — | |
| Satureya hortensis | | | | +m | +! | | | | + |
| „ montana | | | | — | | | | | -- |
| „ Clinopodium | — — | | — | -- | | — | | — | |
| „ grandiflora | — | | — | | | | | | |
| „ Calamintha ssp. silvatica = Cal. officin. | | | | | | | | | — |
| „ „ ascendens, S. de Paris | | | | — | | | | | |
| „ acinos | | | | — | | | | | |
| „ alpina | | | | | | | | | — |
| Lycopus europaeus | | | | — | | | | | |
| Origanum vulgare, S. | — — | | — | — | | | — | | |
| „ „ Montagny et Berne | | | | — | — | — | | | |
| Melissa officinalis L. | | | — | — | | | | | |
| Nepeta Catarea | | | | — | — | | | | |
| Melittis melissophyllum L. | | | | | | — | | | |
| Monarda fistulosa | | | | — | | | — | | |

1) Voir remarques p. 4 et suiv. — 2) Semis du jardin bot. de Hambourg. — 3) Urédos seuleme

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**et 1905 avec P. Menthae sur les Mentha.**

+! résultat positif avec production de spores d'ordre supérieur; +!! résultat positif avec urédos puis
u peu après la période d'incubation.

| olia | | | | Spores de M. viridis | Spores de M. arvensis | | | | | Spores de M. aquatica | | | | | | Spores de M. citrata |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Urédospores | | | | Urédosp. | Téleutsp. | | Aecid. et Urédosp. | Urédospores | | Téltsp. | Urédospores | | | | | Urédosp. |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| VI. 904 | 23 VI. 1904 | 21 VIII. 1905 | 26 IX. 1905 | Août 1905 | 9 VI 1904 | 15 V. 1905 | 8 VI. 1904 | 30 VI. 1904 | 6 IX. 1905 | 20 V. 1905 | 14 VI. 1904 | 25 VI. 1904 | 3 VI. 1905 | 11 IX. 1905 | 13 IX. 1905 | 2 VII 1904 |
| 0 j. | ⟩ 13 j. | 20 j. env. | 40 j. env. | | ⟩ 18 j. | 18 j. | 10 j. | 7 j. | 15 j. | 24 j. | 19 j | 12 j. | ⟨ 20 j. | ⟩ 20 j | ? | 18 j. |
| -+ | + | | | | | | — — | | — | | — | | | | | — |
| | | | | | | | | | | | — | | | | | |
| | + | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | + + — | m+! — | + — | | — | | | | — | | | | | — | |
| | + | | | | | | | | | | | | | | | |
| | — | | | | | | | | — | | | | — | | | |
| | — | — | +! | + | | + | | + | — | + | | + | | — | | |
| | | + | +! | + | | — | | + | — | — | | + | | — | | |
| | — | — | +! | | | | | — | — | | | — | — | — | | |
| | + | + | +! | + | | — | | — | — | | | + | | | — | |
| | — | — | — | | | — | | | — | + | | | — | — | | |
| | — + | + — — | — — | + | | + | | — | — | | | — + | — | — | — | |
| - | | — — | — | + + + + | | — | — — | | | — | — | | | | | — — |
| | + | — | — | | | | | — | — | | | | | | | |
| | | — — | — — | | | — | | — | — | | | • | | — | — | |
| 1 | | | | | | | — | | | | — | | | | | |
| | | | | + — | | | | | | | — | | | — | | |
| | | | | | •! | | + | + | | | | | | | | — |
| - | | | | | | | | — | | | | | | | | — |
| | | — | | — — — | | + | | | +!+!+! | — | | | | | | |
| | + | m | | | | | | | | | | +! | | m | | |
| | | | | | | | | | — | | | | | m | | |
| | | | | | | | — | | | +!! | | + | | +! | | |
| | | | | | | | | | | | +! | + | | | | + |
| | | | | | | | | | | | | + | | | | |
| | | | | — | | | — | | | | + | • | | | — | — |
| | | | | | | | | — | | | | + | | | | |
| | | | — | — | | — | | | — | | | | + | +!+! | — | |
| | | | | | | | | | | | | + | | | | |
| | | — | — | — | | | | | — | | | | | +! | | |
| | | | | | | | | | | | | + | | | | |
| | | | | — | | | | | | | | + | | +! | | |
| | — | | | — | | | | — | — | | | — | — | | | |
| | + | + — | m | | | +! | | | +! | +! | | + | | m | | |
| | — | | | | | — | | | — | — | | — | | | | |
| | | | | | | | — | | | | — | | — | | | |
| | | | | — | | | | | | | | | | | | |
| | | | | — | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | — | | | |
| | | | | | | | | | | | | | — | | | |
| | | | | | | | | | | | | | — | | — — | |
| | | | | | | | | | — | | | | | | | |

**tard.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Résumé général des essais faits en 1904 et 1905 avec P. Menthae sur les Satureja.**

| Plantes en essai | Spores de Sat. Clinopodium | | | Spores de Satureja Calamintha | | | | | Spores de Satureja acinos | | Spores de Satureja alpina |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | ssp. silvatica | | | | var. Nepetoides | | | |
| | Urédospores | | | Téleutospores | Aecidiospores | | Urédospores | Urédospores | Urédospores | | Urédospores |
| Nos. des essais | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |
| Dates de la mise en train des essais | 21 VII. 1905 | 25 VII. 1905 | 29 VII. 1905 | 27 V. 1905 | 22 V. 1905 | 28 VI. 1905 | 16 VIII. 1905 | 5 VII. 1904 | 27 V. 1904 | 14 VI. 1904 | 2 IX. 1905 |
| Durée approx. de l'incubation | 22 j. | >18 j. | >14 j. | <27 j. | 13 j. | >15 j. | — | — | — | 7 j.? | 13 j. |
| Satureja Clinopodium (Payerne) | +! | +!+! | +! | — | — | — | — | — | — | — | — — |
| „ „ (Semis) | + | | | — | | | | | | | |
| „ Calamintha ssp. silvatica | — | | — | +!! | + | + | | | | | — |
| „ „ ssp. ascendens | | — | | | | — | — — | | | | — |
| „ „ ssp. Nepeta var. Nepeta | — | — | — | — | | — | — | — | | | — — |
| „ acinos | | | — | | | | | — | m m | • m | +!+!+! |
| „ „ (Semis) | | — | — | m | | | | | | | |
| „ alpina | — | — | | — | | — | — | | m | | m m + |
| „ grandiflora | | | | | | | | | — | — | |
| „ hortensis | — | — | | | | — | — | | | | — |
| „ montana | | — | | | | | | | | | |
| Nepeta Catarea | | — | | | | | | | | | |
| „ menthoides | | | — | | | | | | | | |
| Ballota nigra | | | — | | | | | | | | |
| Origanum vulgare | — | — | — — | — | — | — | • | — | — | — | — — |
| „ creticum | | | — | | | | | | | | |
| Mentha longifolia | — | | | — | | — | | — | — | — | — |
| „ arvensis | — | | — | — | | — | | — | | — | |
| „ aquatica | — | | | — | | — | | | — — — | — | |
| „ pulegium | | — | | | | | | | | | |

Pour l'explication des signes employés voir tableau précédent.

Le mycélium produit par les basidiospores provoque des boursouflures dues à un agrandissement et à un écartement des cellules corticales (voir Fig. 2). Cela se produit surtout dans les tissus en pleine voie de croissance; les cellules endodermiques perdent aussi leur régularité ainsi que les couches extérieures du liber.

Le mycélium des urédos et téleutospores n'amène pas de déformations. Il se loge entre les cellules corticales de la tige, ou entre les cellules du parenchyme lacuneux de la feuille. Ce mycélium ne paraît pas s'étendre très loin sauf dans Mentha viridis, et un peu dans M. longifolia, où il envahit toute l'écorce en y produisant des téleutospores. Celles-ci ne sont pour la plupart mises en liberté que pendant l'hiver par suite de l'exfoliation des tiges.

## Puccinia Brunellarum-Moliniae nov. spec.

### Aecidium Prunellae Wint.

Le 21 mai 1904, M. le prof. Fischer me conduisit à la station, où, 13 ans auparavant, il avait cueilli l'Aecidium Prunellae Wint. C'était au bord de l'Aar, à 2 km. environ de son confluent avec la Sarine, à l'endroit appelé Flühgraben. Le parasite y était encore et les Brunelles aecidiées relativement peu nombreuses y forment un foyer d'infection de quelques mètres carrés seulement. Un sentier le traverse et c'est le long de celui-ci que la récolte fut la plus fructueuse. Le but de notre course était non seulement de cueillir l'aecidie, mais d'en chercher la téleutospore correspondante. Au milieu du fouillis de feuilles sèches, de graminées surtout, M. Fischer mit la main sur quelques bribes portant des amas de téleutospores hivernées. La grosseur de ces amas et le fait que les spores aecidiennes sur Brunella sont blanches permirent à M. Fischer d'établir une comparaison rapide avec Pucc. Phragmitis ou obtusata et de conclure que ces fragments de feuilles pourraient bien porter la téleutospore cherchée. Une graminée avec des amas plus petits avoisinait directement les aecidies sur Brunella. Sur d'autres, ainsi que sur les carex voisins, assez nombreux, il fut impossible de trouver des téleutospores.

Sur l'invitation de M. le prof. Fischer j'ai poursuivi cette étude de la façon suivante: ne connaissant pas le nom des deux graminées citées plus haut, j'en ai pris des pieds dans le voisinage immédiat et les ai mis en pots. L'une correspondait sensiblement au Calamagrostis varia Link. et l'autre, qui commençait seulement à sortir de terre, ne put être déterminée que plus tard comme étant une Molinia coerulea, détermination vérifiée par des coupes de feuilles, puis par les fleurs.

Les téleutospores ramassées sur feuilles de Molinia paraissaient avoir complètement germé; l'essai fait en chambre humide resta sans résultat, ainsi qu'un essai fait avec 4 Brunelles. Une seule d'entre elles présenta une tache blanche sur une feuille, mais qui disparut ensuite.

Le Calamagrostis varia Link. porte deux sortes de téleutospores; l'une est de la forme de la Pucc. coronata, l'autre de la Pucc. graminis. Celle-ci n'a pas encore complètement germé, mais l'essai fait avec 4 Brunelles ne donne rien.

#### I. Essais.

En même temps que les essais faits avec les téleutospores citées plus haut, les aecidies permettaient les suivants:

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Essai 1.

Commencé le 23 mai 1904.

Les aecidiospores ramassées sur Brunella au Flühgraben le 21 mai sont pulvérisées sur:

1. Molinia coerulea Mönch., cueilli dans le voisinage de Aec. Prunellae
2. Calamagrostis varia Link. „ „ „ „ „ „ „

Le 8 juin quelques taches apparaissent sur la Molinia, le 14 juin ce sont les urédos, puis le 26 déjà apparaissent des téleutospores parmi les amas d'urédos.

### Essai 2.

Commencé le 31 mai 1904.

Aecidies récoltées le jour précédent au Flühgraben. Elles ne sont pas si fraîches que celles de l'essai 1; beaucoup sont même complètement sèches. Les Molinia voisines ont quelques taches claires sur les feuilles, et, même sur quelques-unes, des urédos commencent à paraitre.

Ces spores aecidiennes sont pulvérisées sur:

1. Molinia coerulea cueilli le jour précédent au Flühgraben, mais dans un endroit éloigné de Brunella
2. Molinia coerulea
3. Festuca gigantea
4. Calamagrostis varia

(2.–4.) provenant de l'établissement fédéral pour le contrôle des semences, à Zurich

La pulvérisation est renouvelée le lendemain matin.

Le 20 juin, No. 1 (Molinia c.) présente des urédos en assez grande quantité et quelques jours plus tard ils sont accompagnés de téleutospores.

No. 2 (idem) a ses premières feuilles mortes et ne donne par le fait aucun résultat.

Les autres plantes restent indemnes.

Le 28 juin les Molinia du Flühgraben, voisines de Brunella, ont de nombreux urédos déjà mêlés de téleutospores. Un essai fait le lendemain en semant ces urédospores sur des Molinies reste sans résultat, malgré la bonne germination en chambre humide et l'état vigoureux des deux Molinies utilisées.

Ainsi l'Aecidium Prunellae Wint. paraît bien correspondre à des téleutospores sur Molinia. Ces expériences peuvent cependant être révoquées en doute, car les seules Molinies qui ont donné un résultat positif provenaient de la même région que l'aecidie, et une infection préalable restait possible. Les essais suivants, faits en 1905, complètent et vérifient les précédents.

### Essai 3.

Commencé le 22 avril 1905.

Le matériel d'infection consiste en téleutospores récoltées au Flühgraben le 24 novembre 1904. Les brins de feuilles sont mis dans l'eau puis essuyés et placés,

le 22 avril sur

1. Brunella vulgaris provenant de Payerne (exemplaire chétif);

le 28 avril sur

2. Brunella vulgaris de graines du jardin bot. de Hambourg et indiquées sous le nom de Brun. alba,
3. Brunella grandiflora de Chamblon près Yverdon;

le 6 mai sur

4. Brunella vulgaris de graines du jard. bot. d'Upsala.

Résultats:

No. 1 (Brun. vulg.) a le 2 mai des taches blanchâtres sur les 2 seules feuilles entières qui restent. Le 9 ces taches ont des gouttelettes brillantes et hyalines (pycnides) à la face supérieure et le 15 les premières aecidies apparaissent; la plante meurt ensuite.

No. 2 (idem) a des taches le 8 mai et des aecidies le 15.

No. 3 (Brun. grandiflora) présente un retard sur le No. 2; les premières taches apparaissent le 12 mai et les aecidies le 22.

No. 4 (Brun. vulgaris) a ses premières taches le 22, et ses aecidies le 28 mai.

Toutes ces aecidies continuent à se développer activement. Certaines feuilles ont leur limbe et quelques pétioles complètement déformés.

Deux autres Brunella grandiflora, provenant aussi de Chamblon sur Yverdon, sont infectées de la même manière le 10 mai 1905; le 22 elles ont des taches et le 1er juin de nombreuses aecidies.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Essai 4.

Commencé le 10 juin 1905.

Matériel consistant en aecidies prises au No. 4 de l'essai 3. Ces spores sont pulvérisées sur

1 et 2. Molinia coerulea à feuilles étroites prises sur une pente aride près de Payerne.

Le 28 juin les urédos apparaissent sur quelques feuilles, les téleutospores viennent ensuite, tout comme l'année précédente avec les Molinies à feuilles beaucoup plus larges. A plusieurs reprises j'ai cherché à frotter des feuilles saines contre les urédos pour étendre l'infection, mais ce fut en vain. En novembre les amas existaient toujours, considérablement agrandis et semblables à ceux qui avaient été récoltés au Flühgraben.

De ces essais il résulte donc clairement qu'il existe une Puccinie ayant ses aecidies sur Brunella et ses téleutospores sur Molinia coerulea. Sur les conseils de M. Fischer j'ai nommé cette nouvelle espèce Puccinia Brunellarum-Moliniae. Avant d'en entreprendre l'étude morphologique, voici quelques remarques faites pendant le développement, soit au cours des essais, soit dans les visites faites au Flühgraben.

## II. Quelques remarques sur le développement de Puccinia Brunellarum-Moliniae.

Les téleutospores hivernées germent au printemps. D'après les essais faits sur porte-objet, le pouvoir germinatif a commencé dans les premiers jours d'avril et atteint un maximum 1 mois plus tard; il s'est ensuite affaibli rapidement. Pour germer, les spores doivent être simplement humides et les basidiospores ne sont pas projetées à distance comme chez Pucc. Stachydis par exemple.

Du sol, où se trouvent les feuilles tombées de Molinia, les basidiospores arrivent sur les Brunella, soit directement, soit transportées par la pluie ou par les animaux. Les groupes d'aecidies durent environ 8 jours, puis disparaissent laissant simplement une tache brune. Les spores aecidiennes sont disséminées par les agents habituels et 10 jours plus tard environ apparaissent les premiers urédos. Ceux-ci, en très faible quantité, durent peu, au plus 3 semaines dans les essais. Ils ne peuvent, par le fait, jouer qu'un rôle bien faible et on ne constate pas cette puissante diffusion de la maladie comme chez P. graminis, par exemple. Ainsi le 24 novembre 1904, lors de la récolte des téleutospores au Flühgraben, j'ai pu voir que l'infection ne s'était pas étendue depuis le 28 juin et que le nombre des feuilles malades était relativement faible. Les téleutospores prennent naissance au milieu des urédos, où elles forment une tache qui s'agrandit en longueur surtout, et en déchirant l'épiderme de plus en plus.

## III. Recherches morphologiques.

Il s'agit maintenant de voir s'il y a des différences morphologiques entre P. Brunellarum-Moliniae et les 2 autres formes déjà décrites sur Molinia:

1° Puccinia nemoralis Juel,

2° Puccinia Moliniae (Tul.) Rostrup.

Grâce à l'obligeance de MM. Juel et Rostrup, il m'a été possible d'examiner à fond leurs échantillons; mais, avant de rendre compte de cette étude, il convient de donner la diagnose de P. Brun.-Moliniae.

(Suite.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Contribution concerning the purification of water by ozone.

By **D. Rivas**, M. D., Philadelphia, Pa.

With 6 figures.

Ozone $O_3$ discovered in 1840 by Schönhein, may be regarded as a modification of oxygen of great reactivity, therefore also called active oxygen. It possesses a highly penetrating peculiar odor, in thick layers showing a bluish color. According to Mailferts, ozone is fifteen times more soluble in water than oxygen and in solution gradually reverts to oxygen. At ordinary temperatures it oxidizes strongly; phosphorous, sulphur and arsenic are converted into phosphoric, sulphuric and arsenic acids. Ammonia is changed to nitrous and nitric acid. Silver and lead are converted into the corresponding peroxides. Mercury is converted into black oxide of mercury. Iodine is separated at once from potassium iodine in the presence of $H_2O$ according to the following equation:

$$2\ Ki + H_2O + O_3 = 2\ KOH + O_2 + i_2.$$

It also oxidizes all organic substances etc.

The property of ozone to oxidize objectionable organic matter, together with its great solubility in water, has suggested its use in the purification of drinking water. This problem has received special attention in Europe and the good results obtained by Ohlmuller, Prall, Proskauer and Schudler in Germany, Ermengem and Gerard in Belgium, Roux, Calmette and Marmier in France, and Van t'Hoff, Lebret and Gorter in Holland have given rise to further investigations in America.

Ozone is obtained from oxygen in various ways; it is almost always produced when oxygen is liberated or when it takes part in a reaction; this, in the decomposition of peroxides by concentrated sulphuric acid or when they are heated in a current of oxygen to the temperature to which they are decomposed (Brunk). Also by slow oxidation of moist phosphorous, or, in the combustion of hydrocarbons; by heating silver or gold oxide etc., none of these methods however, furnish sufficient ozone to be of any commercial value.

A better method is by electrolysis of water which has been strongly acidulated, the ozone is contained in the oxygen liberated at the positive electrode. The best and most practical method depends upon the action of the so-called "silent brush" discharge in an atmosphere of oxygen or air. In none of these methods is all of the oxygen ever converted into ozone, indeed, only a small portion suffers this change.

Though all electrical discharges or sparks have the property of producing ozone from oxygen or from the atmosphere, the common white color zigzag, long, snapping, oscillatory discharge from a static machine is not so favorable to that end. The voltaic arc presents a greater obstacle because of its intense heat which will melt any material used in the form of apparatus. In view of these difficulties different methods have been advised for the production of ozone. Beginning with Fröhlich and Erlwein in 1891 and subsequently by Siemens and Halske, Tyndall, Abraham and Marmier, Andreoli, Yost, Yarnold, Lamprey, Friedham etc., and finally Vosmaer, each investigator has contributed more or less to the perfection of the system.

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

It is not necessary to relate the details of the method which each one has employed, but as Vosmaer system has given the most satisfactory result in Europe, and as this is the one with which the writer had the opportunity to experiment, this alone will be briefly considered.

The alternating current in the transformer *Pr* and *Se* figure 1 is regulated by a chocking coil *L*, placed in "series" and a condensor *C* placed in "shunt". This electrical combination prevents the formation

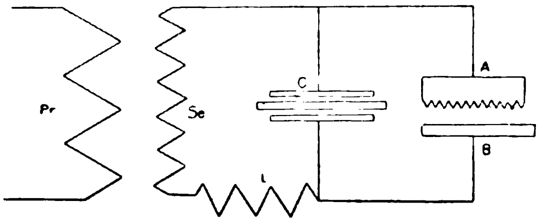



Fig. 1. *Pr* Primary of the transformer. *Se* Secondary of the transformer. *L* High tension chocking coil. *C* High tension condensers. *A* Pointed discharger. *B* Flat electrode.

of an arc, and at the sametime gives rise to a steady, silent brush discharge between the pointed dischargers *a* and the flat electrode *b*, which is the most favorable kind of discharge for the production of ozone.

The ozonizer figure 2 consists of a number of parallel tubes open at both ends put together like a feed water heater, each tube containing

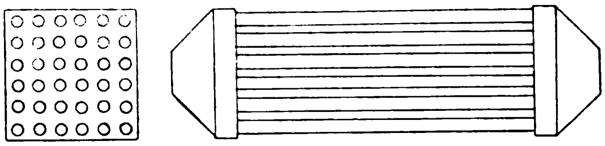


Fig. 2.

a set of nickel dischargers, one pointed (*a*) in the form of a saw and one flat (*b*) separated from each other at a fixed distance by insulated plates of porcellain (*c*) as shown in figure 3.

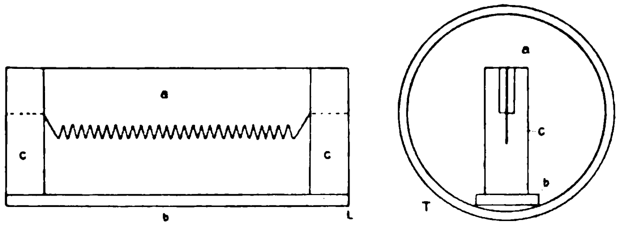



Fig. 3. Ozonizer tube. *L* Longitudinal section. *T* Transverse section.

As shown in the above diagrams in the Vosmaer system there is no dielectric between the dischargers; the voltaic arc by special way of connection is prevented and a dark blue-violet brush discharge is produced by using sharp pointed dischargers against flat electrodes.

In order to be brief a photograph of the plant in general fig. 4 is given, and also a diagram fig. 5 which is explained by itself the operation of the plant, it suffices only to add that the water to be ozonized is raised by means of a pump to the top of the sterilizing tower *E* 36

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

feet high, while the compressed ozone from the tank *D* is applied at the bottom of the same sterilizing tower in the way shown in fig. 6, so that the gas passing through the column of water and escaping at the top of the tower, permits the desired contact of the ozone with the water.

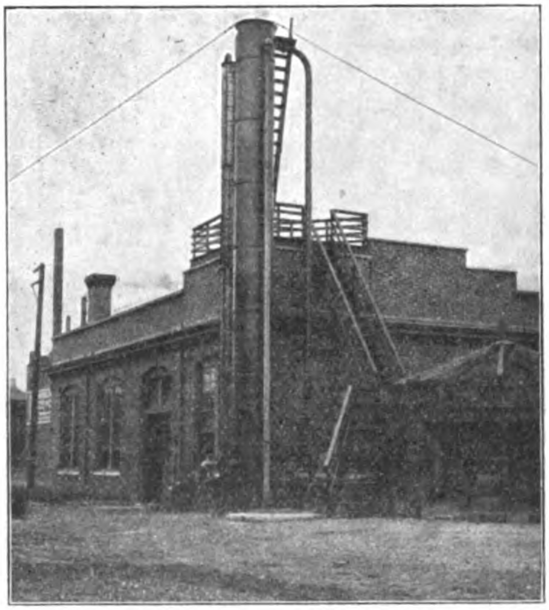


Fig. 4.

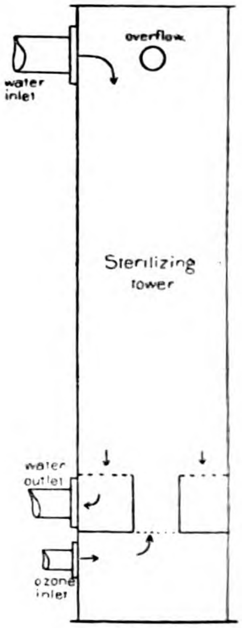



Fig. 6.

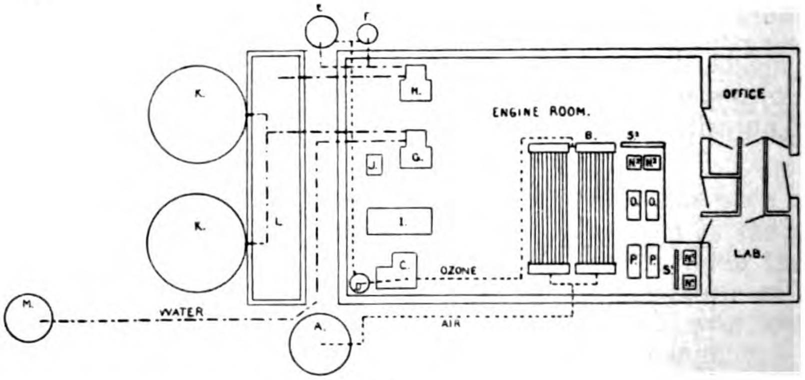



Fig. 5.

*A* Air drying apparatus. *B* Ozonizers. *C* Air compressor. *D* Compressed ozone tank. *E* Sterilizing tower (iron). *F* Sterilizing tower (glass). *G* Filter pump. *H* Tower pump. *I* Motor generator. *J* Exiter. *K* Filters. *L* Filtered water basin. *M* Suction tank at river side. *N* Transformers. *O* Choking coils. *P* Condensers. *S* Switch boards.

## Description.

Demonstration plant of the united water Improvement Co. Thirtieth and Locust Sts. Philadelphia Pa.

Air is drawn, from the atmosphere, in at the bottom of *A* and is here drawn upward through chloride of calcium, where it is thoroughly

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dried, and now passes from *A* to *B*, where it is converted into ozone, and from here the ozone is drawn by the compressor *C* and pumped into the tank *D*, from which it is distributed to the bottoms of the towers *E* and *F*.

Meanwhile, the water is drawn from the suction tank *M* by the pump *G* and pumped into the filters *K* and after the water is filtered it flows into the basin *L*, from where it is pumped by pump *H* and distributed to the tops of the towers *E* and *F* here, ozone, going in at the bottom, is forced up through the filtered water, coming in the top, sterilizing it.

The electric current is brought in from outside to the transformers *N*, to the switchboard *S*, which supplies the motors of the compressor *C*, of the pumps *G* and *H* and of the generator *I*, which generates the current for the transformers *N*, the choking coils *O*, the condensers *P* and the ozonizers *B*.

The expenditure of energy varies from 8—10 kilowatts. The compressor averaging about 100 strokes per minute, about 5000—8000 cubic ft. of ozonized air being applied per hour with the concentration of about 0,5—1,0 mg of ozone per cubic meter of ozonized air.

The experiments were conducted with the water of the Schuylkill river below the city at 30th and Locust Sts., West Philadelphia, where the plant is in operation, at this point the river is badly polluted, containing from 400000—3000000 bacteria per cubic centimeter; such a water may be regarded as diluted sewage. Before ozonization, this water was submitted to a rough sand filtration merely to remove some of the suspended matter. The number of bacteria removed by this process was small in most of the cases, and in some instances insignificant. Though the principal object of this investigation was to determine whether ozone could bring about a purification of such a badly polluted water, some experiments were also made with the city water which contained from 24—600 bacteria per c. c. Beside a quantitative bacterial counting a qualitative examination was also made for the colon group of bacteria in the river water, before and after filtration and ozonization to determine its sanitary condition after treatment. The plating was made on nutrient gelatine and kept in the incubator at 19°—20° C for 48 hours at least, and in some cases for three or four days.

With this preliminary technic, the experiments were carried out in the most careful manner, and beginning with the city water the results are as follows:

1st Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | City water | — | — | — | 24 |
| 2 | Ozonized water | 10000 | 5000 cubic ft. | 1,1 mg | 0 |
| 3 | Control | — | — | — | 0 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2nd Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. after 48 hours at 19°—20° C | After 3 days at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | City water | — | — | — | 41 | 55 |
| 2 | Ozonized water | 15 000 | 5200 cubic ft. | 1,1 mg | 2 | 11 |
| 3 | „ „ | 20 000 | 5200 „ „ | 1,1 „ | 3 | 9 |
| 4 | „ „ | 25 000 | 5200 „ „ | 1,1 „ | 3 | 7 |
| 5 | „ „ | 30 000 | 5200 „ „ | 1,1 „ | 5 | 16 |
| 6 | Control | — | — | — | 0 | 0 |

As shown in these two experiments the purification of the water was practically complete, as a matter of corroboration it was desirable to repeat the same experiment. The result is as follows:

3rd Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | after 48 hours at 19°—20° C | after 3 days at 19°—20° C |
| 1 | City water | — | — | — | 75 | 120 |
| 2 | Ozonized water | 15 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 2 | 9 |
| 3 | „ „ | 20 000 | 5200 „ „ | 1,0 „ | 2 | 10 |
| 4 | „ „ | 25 000 | 5200 „ „ | 1,0 „ | 9 | 19 |
| 5 | „ „ | 30 000 | 5200 „ „ | 1,0 „ | 8 | 14 |
| 6 | Control | — | — | — | 0 | 1 mould |

The result of this 3rd experiment corresponds to the one obtained with the 1st and 2nd, in order to avoid any variations which could produce the change of ratees in such short intervals, it was desirable to repeat the experiment with a constant rate and keep as much as possible the conditions the same throughout the operation. The samples of ozonized water were taken every hour.

4th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | after 48 hours at 19°—20° C | after 4 days at 19°—20° C |
| 1 | City water | — | — | — | 110 | 600 |
| 2 | Ozonized water | 35 000 | 8400 cubic ft. | 0,43 mg | 11 | 21 |
| 3 | „ „ | 35 000 | 8400 „ „ | 0,43 „ | 12 | 22 |
| 4 | „ „ | 35 000 | 8400 „ „ | 0,43 „ | 12 | 13 |
| 5 | „ „ | 35 000 | 8400 „ „ | 0,43 „ | 8 | 19 |
| 6 | „ „ | 35 000 | 8400 „ „ | 0,43 „ | 20 | 26 |
| 7 | Control | — | — | — | 0 | 0 |

Regardless of the inferior quality of the water and the less concentration of ozone, the result obtained is the same as before; in each case the ozone produced the most desirable purification of water.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In view of the pure condition of the water heretofore treated in the following experiments, an attempt was made to purify the polluted water of the schuylkill river.

5th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 1 200 000 |
| 2 | Filtered | 5000 | — | — | 700 000 |
| 3 | Ozonized | 5000 | 6000 cubic ft. | 0,9 mg | 220 |
| 4 | " | 5000 | 6000 " " | 0,9 " | 5 |
| 5 | " | 5000 | 6000 " " | 0,9 " | 7 |
| 6 | Control | — | — | — | 0 |

6th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 700 000 |
| 2 | Filtered | 5000 | — | — | 240 000 |
| 3 | Ozonized | 5000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 17 |
| 4 | Filtered | 7500 | — | — | 250 000 |
| 5 | Ozonized | 7500 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 34 |
| 6 | Control | — | — | — | 0 |

The encouraging result in the last two experiments in which by ozonization polluted water containing over 200 000 bacteria per c. c. was rendered practically sterile, it was suggested to increase the rate of supply in order to find out the maximum amount of water which could be purified with a definite concentration of ozone.

7th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 1 300 000 |
| 2 | Filtered | 5 000 | — | — | 700 000 |
| 3 | Ozonized | 5 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 460 |
| 4 | Filtered | 7 000 | — | — | 1 300 000 |
| 5 | Ozonized | 7 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 740 |
| 6 | Filtered | 10 000 | — | — | 1 200 000 |
| 7 | Ozonized | 12 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 1 500 |
| 8 | " | 12 000 | 5200 " " | 1,0 " | 2 100 |
| 9 | Control | — | — | — | 0 |

The fact that the percentage of removal of this abnormally polluted water is so great, indicates the most excellent results obtained by the process; and the fact that the resulting count in the ozonized water is high in this case should not detract from the method nor be discouraging to the inventor of the process, since in no case will a city be compelled to render potable a supply from such a source.

The result of this experiment suggested a repetition under a constant rate. The result was as follows:

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 1 100 000 |
| 2 | Filtered | 10 000 | — | — | 300 000 |
| 3 | Ozonized | 10 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 4 300 |
| 4 | Filtered | 10 000 | — | — | 600 000 |
| 5 | Ozonized | 10 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 3 500 |
| 6 | Filtered | 10 000 | — | — | 200 000 |
| 7 | Ozonized | 10 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 110 |
| 8 | Filtered | 10 000 | — | — | 400 000 |
| 9 | Ozonized | 10 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 50 |
| 10 | Filtered | 10 000 | — | — | 450 000 |
| 11 | Ozonized | 10 000 | 5200 cubic ft. | 1,0 mg | 35 |
| 12 | Control | — | — | 1,0 mg | 0 |

9th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 1 200 000 |
| 2 | Filtered | 10 000 | — | — | 300 000 |
| 3 | Ozonized | 10 000 | 5000 cubic ft. | 1,0 mg | 120 |
| 4 | Filtered | 10 000 | — | — | 500 000 |
| 5 | Ozonized | 10 000 | 5000 cubic ft. | 1,0 mg | 55 |
| 6 | Filtered | 10 000 | — | — | 500 000 |
| 7 | Ozonized | 10 000 | 5000 cubic ft. | 1,0 mg | 38 |
| 8 | Control | — | — | — | 0 |

In the 8th experiment, though the action of ozone was not so effective at the beginning, it improved later, showing a reduction from 400 000 and 450 000 to 50 and 35 bacteria per c. c. respectively. (This improvement was due very probably to the gradual washing of dirt or organic matter accumulated in the pipes.) Likewise the same improvement is observed in the 9th experiment which shows a reduction from 500 000 to 55 and 38 bacteria per c. c.

Having reached this point, the next step was to find out the kinds of bacteria which remained after ozonization, or in other words, to determine the selective action of ozone in eliminating all non-spores producing bacteria. A thorough study upon this subject no doubt would have been a most instructive part of work, as regardless of a high bacterial content in a water, if the germs are of the harmless saprophitic type, such a water is of far better quality than another of low number of bacteria containing among them the pathogenic or disease producting germs.

Due to the limited time for these researches, the study of the colon group was only considered, no doubt with sufficient reason the number of this group in a water is taken as an indication of pollution. In the writer's opinion too much reliance is placed upon this point. The wide distribution of the colon group in nature, and especially the simple and imperfect routine technic frequently employed in some cases in its study, not only diminishes the importance of such results but also almost entirely neglects the researches concerning the typhoid, cholera, pyocyaneus and some others pathogenic bacteria, inhabitants of the water far more important than the colon bacillus.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In the study of the colon bacillus beside the biological features, viz., pink colonies on litmus-lactose-agar, fermentation of glucose, production of indol, coagulation of milk, reduction of nitrates into nitrites and non-coagulation of the gelatine, the morphological characteristic were also considered, the cultures were examined under the microscope fresh and stained and submitted also to Grams method of staining.

It is not necessary to consider the details of the technic employed in the study of the colon group and the biological and morphological variations which it presents, all were thoroughly considered; it suffices only to say that, besides a steril control of the water and medium used also a culture of the colon and typhoid bacillus were submitted to exactly the same tests in order to eliminate any doubtful reactions. The results are as follows:

10th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours | No. of B. coli per c. c. of water |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 900 000 | 48 000 |
| 2 | Filtered | 800 | — | — | 400 000 | 16 000 |
| 3 | Ozonized | 800 | 6300 cubic ft. | 0,6 mg | 6 000 | 50 |
| 4 | River | — | — | — | 1 000 000 | 40 000 |
| 5 | Filtered | 800 | — | — | 600 000 | 19 000 |
| 6 | Ozonized | 800 | 6300 cubic ft. | 0,6 mg | 5 000 | 52 |
| 7 | River | — | — | — | 800 000 | 35 000 |
| 8 | Filtered | 800 | — | — | 1 000 000 | 43 000 |
| 9 | Ozonized | 800 | 6300 cubic ft. | 0,6 mg | 1 200 | 15 |
| 10 | River | — | — | — | 500 000 | 31 000 |
| 11 | Filtered | 800 | — | — | 280 000 | 10 000 |
| 12 | Ozonized | 800 | 6300 cubic ft. | 0,6 mg | 1 000 | 0 |
| 13 | Control | — | — | — | 0 | 0 |

Here again as in the previous experiments is noted a gradual improvement in the ozonized water, the longer the plant was in operation. reducing the number of bacteria to 1000 per c. c. of the ozonized water and no colon bacillus in one c. c. of the same water, but the irregularity of the experiments in general, due to the changeable conditions of the river, and the variable removal of bacteria by filtration, made it advisable to repeat the experiment which resulted as follows:

11th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C | No. of B. coli in 1 c. c. | 10 c. c. | 100 c. c. | 500 c. c. | 1000 c. c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 400 000 | 3000 | — | — | — | — |
| 2 | Filtered | 800 | — | — | 20 000 | 1000 | — | — | — | — |
| 3 | Ozonized | 800 | 4500 cubic ft. | 0,9 mg | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Control | — | — | — | 0 | — | — | — | — | — |

In this experiment the efficient removal of bacteria by filtration brought about the most satisfactory result, giving only 2 bacteria per c. c. of the ozonized water, and no coli bacillus, not only in 1 c. c. but also in 1 litre of the water treated.



Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

In conclusion one more experiment was made.

12th Experiment.

| No. | Source | No. of gallons per hour | Amount of ozonized air applied per hour | Concentration of ozone per cubic meter of ozonized air | No. of bacteria per c. c. of water after 48 hours at 19°—20° C | No. of B. coli in 1 c. c. | 10 c. c. | 100 c. c. | 500 c. c. | 1000 c. c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | River | — | — | — | 3 000 000 | 10 000 | — | — | — | — |
| 2 | Filtered | 800 | — | — | 40 000 | 1 400 | — | — | — | — |
| 3 | Ozonized | 800 | 6000 cubic ft. | 0,6 mg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Control | — | — | — | 0 | — | — | — | — | — |

Here as before a most favorable result was obtained, proving once more che effectiveness of ozone in the purification of badly polluted water.

The selective action of ozone in eliminating the colon group from the ozonized water may be taken as sufficient evidence that the same result would be obtained with the typhoid and cholera bacillus which have about the same resistance and vitality.

The results here reported represent only the experiments in which the most favorable results were obtained. In other experiments not here recorded, the reduction of the number of bacteria was only partial, likewise in some cases the Bacillus coli communis was not always eliminated from the ozonized water, due to the poor quality of the water treated, which contained a too high amount of organic matter, to the changeable condition of the river, some accidental failure in the operation of the plant, to deficience in the amount of ozone applied, or to other causes not clearly understood, a constant result was not always obtained. It must be noted however that as shown in the above experiments, such a water may be regarded as diluted sewage. As far as the literature upon the subject is concerned no one has ever attempted to ozonize such a foul water.

Though special attention was paid to the bacteriological examination the chemical analyses were not entirely neglected. The results of some analysis made are as follows:

Parts per million.

| | | Filtered water | Ozonized water |
|---|---|---|---|
| Nitrogen as | Total organic and ammonium (Kjeldahl method) | 2,15 | 1,76 |
| | Nitrites | 0,08 | 0,00 |
| | Nitrates | 0,76 | 0,96 |
| | „Permanganate consumed“ | 10,86 | 7,11 |
| | Oxygen consumed | 2,73 | 1,77 |
| | Oxygen dissolved | 6,80 | 10,80 |
| | Chlorine | 6,00 | 6,00 |
| | Carbonic acid | 6,00 | 6,00 |
| | Hardness | 96,00 | 96,00 |
| | Alkalinity | 35,00 | 35,00 |
| | Iron comparative test | equal | |

As shown by this result there is a marked reduction in the organic matter. The marked increase in the "dissolved oxygen" is but natural as is the fact that the inorganic constituents remain unchanged by

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

ozonization. Further on ozone shows a tendency to oxidize the objectionable organic matter upon which the existence of the bacteria depends, and further research concerning the organic constituents will not only be interesting, but will give information greatly to be desired.

Further on some experiments were made to determine the effect of storage upon the ozonized water. For this purpose samples of ozonized water at the lowest possible rate of 800 gallons per hour, and at the rate of 33 000 gallons per hour, which represents very nearly the maximum capacity of the plant, were selected. At the same time duplicate samples of the filtered water of the city and an artesian well water, the chemical analysis of which were also made as shown in the following table.

Parts per million.

| | | Artesian well water | Filtered water |
|---|---|---|---|
| Nitrogen as | Total organic and ammonium (Kjeldahl method) | 0,06 | 0,16 |
| | Nitrites | 0,0+ | 0,00 |
| | Nitrates | 2,12 | 0,94 |
| | Oxygen consumed | 0,25 | 1,65 |
| | Chlorin | 4,6 | — |
| | Hardness | 41,0 | — |
| | Alkalinity | 12,0 | — |
| | Turbidity | 0,0+ | 1,+ |
| | Total solids | — | 136,0 |
| | No. of bacteria per c. c. | 2 | 30,0 |
| | No. of B. coli communis in 1 c. c. | 0 | 0 |

Were also taken for comparison.

The filtered water represents the water from the Belmont filters as it is delivered in this section of West Philadelphia, and according to the above analysis may be regarded as safe while the well water was found to be of a very pure quality as it is a sample of the city supply of Camden N. J.

With this preliminary results all the samples were kept in the dark at 19° C and 8°—10° C submitted to exactly the same condition and examined every day with the following result:

| Source | Rate of ozonization per hour | Storage temperature | No. of bacteria per c. c. of water: at time of collection | after one day | after 2 days | after 3 days |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ozonized | 800 gallons | 19° C | 35 | 460 | 1 260 | 420 000 |
| „ | 800 „ | 8°—10° C | 21 | 210 | 550 | 9 500 |
| „ | 33 000 „ | 19° C | 32 | 60 000 | 700 000 | — |
| „ | 33 000 „ | 8°—10° C | 25 | 54 000 | 150 000 | — |
| Filtered | — | 19° C | 8 | 25 | 300 | 2 500 |
| „ | — | 8°—10° C | 12 | 20 | 110 | 2 000 |
| „ | — | 19° C | 25 | 30 | 450 | 3 000 |
| „ | — | 8°—10° C | 18 | 41 | 230 | 2 000 |
| Well water | — | 19° C | 2 | — | 10 | 160 |

As shown in the above experiment the multiplication of bacteria was greater in the ozonized water than in the filtered or artesian well water, but it is to be noted that the ozonized water contained a much



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

larger amount of organic matter upon which the bacteria live, than either of the two. It is also noted that the multiplication was greater and more rapid in the water ozonized at higher rate. A repetition of these experiments showed very nearly the same results, further it was noted in some cases a greater multiplication of bacteria in the filtered water from 20—50 bacteria per c. c. at the time of collection to 20000—40000 bacteria per c. c. after the 2nd and 3rd day of storage.

In a brief consideration of the results obtained, it was not always possible to find a special relation between the multiplication of bacteria and the kind of organic matter present in the water. It was, however, noted in many cases that the greatest increase was observed in the water which was found to contain the largest quantity of ammonia and gave the largest amount of oxygen consumed. Beside the organic constituent the number and kind of bacteria present in the water is another important consideration.

That a certain amount of organic matter, ever so small, is necessary for the life of bacteria is beyond doubt, this, however, does not need to be the same for all species, and indeed what will be pabulum for one kind may be infavorable to the growth of others. Pabulum and poison as we know is not absolute, but relative; there are bacteria which do not grow on gelatine or other culture medium, because they are too rich, while they will grow in a medium weaker in pabulum. We know after the experiment of Winogradsky that for the nitrifying bacteria very small quantity of sugar and ammonia are poisonous to their growth while the reverse is observed with other species.

Papenhousen showed the development of saprophytic bacteria in distilled water; likewise has been shown the growth of Micrococcus aquatilis in distilled sterile water; contrary to this the pathogenic or disease producing bacteria are known not to grow in medium or water poor in pabulum, and to this fact in great part, may be attributed their rapid disappearance from such a water. Therefore it is natural to believe that the growth of the bacteria flora in a water is in direct proportion to the amount of organic substances contained in it.

Under natural conditions if a sample of water to which no pabulum is added is incubated, it will be observed that the bacteria which need larger quantity of organic matter will be the first to grow, and when the pabulum is greatly reduced, this will be replaced by other species, which need less organic substances for their existence, and so on until the bacteria which need practically no organic matter will remain, so that in studying the growth of bacteria in a water we may identify the different species by the proportionate amount of organic substances needed for their existence.

In the purification of water by the slow sand filtration as we know, the straining action is but a part of the work accomplished by the filter, and in addition other forces are at work. One of these is known to be the action of bacteria on the organic matter, this is called the "biological action of the filter". Certain well known forms of water bacteria have the property of producing a gelatinous substance which together with the bulk of suspended matter, including the bacteria in the water, are intercepted at the surface of the sand constituting the "Schmutzdecke", here, as the saprophytic bacteria depend for subsistence on dead organic matter, the splitting up of the complex organic matter

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

into its nitrogenous and carbonaceous elements is constantly going on, the carbon going off as $CO_2$, and other gases, and the nitrogenous matter is converted to ammonia which is then oxidized to nitrous and nitric acid, which in turn unite with the bases in the water forming nitrites and nitrates in themselves harmless product of bacterial action. The biological action of the filter after all is the most important. The bacteria are chiefly concerned in the destruction of the organic matter, and its conversion into harmless nitrates; and in that way very probable the organic constituent of the water is so changed, and to some extent exhausted, that the bacteria present in the effluent find very little of the pabulum on which their life depends, and to this fact no doubt may be attributed to some extent the comparatively good keeping quality of the filtered water showed in the above experiments.

The comparison of the chemical analysis of the water before and after ozonization shows also the oxidation of the organic matter to a certain extent in proportion to the rate of ozonization, concentration of ozone applied and the condition of the water treated. Whether the changes in the organic matter are so complete as in the case of the slow sand filtration, I am not prepared to say. It is not my purpose to make a comparison of the processes, but merely to point out the fact that though much has been writen upon the germicidal action of ozone in the water, a thorough study of the chemical changes which the gas produces on the organic constituent of it, and further investigations upon the storage of the water treated, will furnish most desirable information upon the keeping quality of the water after treatment.

From the above results the following conclusions may be drawn:

1. Under favorable conditions ozone produces not only the most desirable reduction of bacteria in the water, but also eliminates the Bacillus coli communis.

2. Beside its germicidal action, ozone possesses the property of attacking the objectionable organic matter in the water; also of oxidizing the ammonia forming harmless nitrate.

3. When the water was rich in organic matter, the germicidal action of ozone and the chemical changes produced by the gas were only partial.

4. The storage or keeping quality of the ozonized water was not as good as when the organic matter was high-finally.

5. In consideration of the poor condition of the water treated and the changeable condition of the river, which at this point is practically a diluted sewage, the good result obtained in most of the cases is an indication that with a water such as is ordinary obtainable for a city supply probably a more constant and favorable results would be obtained by ozonization.

In conclusion I desire to express my most sincere thanks to the United Water Improvement Company for the opportunity extended to me in conducting these experiments, to Monsieur le Professeur A. Calmette for the kindness in furnishing me with cultures for this work, and to Dr. A. Vosmaer, Mr. H. Blanken, Dr. B. W. Boesch, and Mr. L. A. Wilkes for their courtesy and valuable assistance during the progress of the investigation.

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

*Nachdruck verboten.*

# Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. III[1]).

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und Dr. **A. E. Parr.**

Mit 1 Kurve.

Die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben übereinstimmend gezeigt, daß das zuerst von Remy[2]) konsequent in Anwendung gebrachte Verfahren, zweckentsprechend zusammengesetzte Lösungen mit reichlichen Erdmengen (am besten 10 Proz.) zu beimpfen, entschieden sehr geeignet ist, zuverlässige Anhaltspunkte zur Beurteilung des biologischen Charakters und damit der Fruchtbarkeit eines oder mehrerer Böden zu verschaffen. Vorläufig scheint es mir allerdings am Platze, durch eingehende Prüfung und Ausgestaltung der Methodik vor allem auf eine ausreichende Sicherung der Basis derartiger Forschungen hinzuarbeiten; ist dies einmal erreicht, dann werden auch die theoretisch wie praktisch gleich bedeutsamen Resultate nicht ausbleiben. Die Geschichte der medizinischen Bakteriologie ist in dieser Hinsicht für den Agrikulturbakteriologen entschieden sehr lehrreich.

Bisher war nicht geprüft worden, ob die von Remy, Wohltmann, H. Fischer und Schneider u. a. zur Feststellung der „Fäulniskraft" des Bodens benutzten Veränderungen, die eine mit 10 Proz. Erde beimpfte 1-proz. Peptonlösung erfuhr, wirklich als allgemein brauchbarer Maßstab dafür gelten können. Daß die bei Vegetationsgefäßversuchen durch Peptondüngung erzielten Resultate mit jenen Befunden übereinstimmend ausfielen, gab naturgemäß keine Antwort auf die berührte Frage. Einige gelegentliche Beobachtungen[3]) schienen aber für ein analoges Verhalten des Pepton Merck und stickstoffreichen Knochenmehls zu sprechen. Um hierüber Klarheit zu gewinnen, veranlaßte ich Herrn Parr, entsprechende vergleichende Untersuchungen auszuführen. Ueber einen Teil der erlangten Befunde hat er in seiner Inaugural-Dissertation[4]) referiert. Einige weitere Versuchsreihen konnten dort nicht mehr berücksichtigt werden; ihre Resultate seien deshalb an dieser Stelle mitgeteilt und gemeinsam mit den wichtigsten der a. a. O. publizierten Befunde einer kurzen Betrachtung unterworfen. Dabei wird sich erwünschte Gelegenheit bieten, auf einige neuere einschlägige Veröffentlichungen Rücksicht zu nehmen.

Da meine Untersuchungen ergeben hatten, daß unter dem wechselnden Einflusse der Witterung und der Jahreszeit bei Verwendung desselben Bodens die im Laboratorium unter gleichen Bedingungen angestellten Umsetzungsversuche mehr oder minder differente Ergebnisse zeitigten, so wurden auch diesmal nicht verschiedene Böden zum Versuch herangezogen, sondern es wurden einem Stück des in Oberholz gelegenen Versuchsfeldes des hiesigen Instituts alle 1—2 Monate jedes-

1) Fortsetzung der in diesem Blatte, Bd. XII. p. 262; Bd. XIV. p. 1 und in den Mitt. des landw. Inst. der Univ. Leipzig. Heft 7 (Habilit.-Schrift, Autoreferat l. c. Bd. XV. p. 361) veröffentlichten methodologischen Abhandlungen.

2) Remy, Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. VIII. p. 657.

3) l. c. Bd. XIV. p. 4, 6.

4) Parr, Ueber die Bildung von Ammoniak aus stickstoffhaltigen Düngemitteln organischen Ursprungs. Diss. Leipzig 1906.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mal an zwei Stellen die erforderlichen Proben aus ca. 10 cm Tiefe entnommen [1]). Um die Resultate möglichst klar zu gestalten, wurde das Feld während der ganzen Versuchsdauer nicht bearbeitet und nicht bestellt. Nur das aufgelaufene Unkraut wurde abgemäht. Der Bakterienbestand war demnach, abgesehen von der infolge der mangelnden Bearbeitung unvermeidlich eintretenden, aber wohl nur unbedeutenden Verdichtung, ausschließlich den Einwirkungen der Jahreszeit, der Temperatur und der Feuchtigkeit ausgesetzt. Uebten diese Faktoren auf die an der Zersetzung der verschiedenen stickstoffhaltigen organischen Düngemitteln beteiligten Bakteriengruppen analoge Wirkungen aus, so mußten die nach den Resultaten der Umsetzungsversuche konstruierten Intensitätskurven parallel verlaufen. War dies nicht der Fall, so konnte das Pepton nicht als allgemein gültiger Maßstab für die „Fäulniskraft" des Bodens anerkannt werden. Wie aus den nachfolgenden Mitteilungen zu ersehen ist, waren Uebereinstimmungen nur in beschränktem Umfange zu konstatieren; insbesondere zeigten Pepton Witte und das (von Remy benutzte) Pepton Schering zwar unter sich ein sehr ähnliches Verhalten, das aber von demjenigen der anderen zum Versuch herangezogenen Substanzen, namentlich im Sommer, sehr stark abwich.

An stickstoffhaltigen organischen Substanzen wurden verwendet:

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pepton Witte | mit | 12,50 | Proz. | N | Knochenmehl | mit | 4,40 | Proz. N. |
| „ Merck | „ | 12,50 | „ | „ | Hornmehl | „ | 12,70 | „ „ |
| „ Schering | „ | 7,70 | „ | „ [2]) | Blutmehl | „ | 13,04 | „ „ |

Um ungefähr gleich große Stickstoffmengen in die Lösungen zu bringen, wurden von Pepton Witte, Merck, Hornmehl und Blutmehl je 1 g, von Pepton Schering je 2 g und von Knochenmehl je 3 g auf 100 ccm verwendet.

Zur Herstellung der Nährlösungen hatte sich nach meinen Beobachtungen speziell für die Denitrifikation und für die Stickstoffassimilation das Bodenextrakt als vorteilhaft erwiesen. Daß dies manchmal auch für Nitrifikationsversuche gilt, haben Gutzeits [3]) Untersuchungen gezeigt. Dagegen ergaben sich im vorliegenden Falle keine erheblichen Unterschiede hinsichtlich des Verlaufs der Ammoniakbildung in den mit Leitungswasser bezw. mit Bodenextrakt hergestellten Lösungen, was im Hinblick auf die relativ bedeutenden Mengen, die an aschehaltigen organischen Substanzen zur Verwendung kamen, nicht überrascht. Es wurden je 50 ccm Lösung + 5 g Erde benutzt, die sich in 100 ccm-Rundkolben befanden. Nach Ablauf der Versuchsdauer wurde der Inhalt in die Destillierkolben übergespült, daraus der durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoff ausgetrieben und in $^1/_5$-Normal-Schwefelsäure aufgefangen.

Die bei den entsprechenden Vorversuchen erlangten Zahlen, die gleichzeitig über die geeignete Versuchsdauer orientieren, sind die folgenden [mg N im Mittel [4]) pro 50 ccm]:

---

1) Sowohl hierbei, wie bei den weiteren Manipulationen wurde, sofern im Text nicht Gegenteiliges bemerkt ist, dasselbe Verfahren innegehalten, das ich in meiner Habilitationsschrift, p. 13—15, beschrieb; cf. Parr, l. c. p. 7.

2) Diesen auffallend niedrigen Stickstoffgehalt zeigten übereinstimmend zwei zu verschiedenen Zeiten bezogene Proben.

3) Gutzeit, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 374.

4) Parallelzahlen bei Parr, l. c. p. 10.

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Flüssigkeit: | Bodenextrakt | | | | | | Leitungswasser | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchsdauer | 3 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 9 Tage | 10 Tage | 20 Tage | 3 Tage | 5 Tage | 7 Tage | 9 Tage | 10 Tage | 20 Tage |
| Pepton Merck | 21,84 | 33,04 | 36,26 | 36,08 | — | — | 22,40 | 32,48 | 36,82 | 36,42 | — | — |
| „ Witte | 6,72 | 25,06 | 36,63 | 44,66 | — | — | 8,52 | 20,58 | 35,70 | 40,88 | — | — |
| „ Schering | 9,52 | 20,44 | 31,78 | 42,98 | — | — | 8,82 | 24,36 | 34,30 | 40,88 | — | — |
| Knochenmehl | — | — | — | — | 20,51 | 22,68 | — | — | — | — | 20,02 | 21,28 |
| Hornmehl | — | — | — | — | 9,24 | 13,51 | — | — | — | — | 8,05 | 12,32 |
| Blutmehl | — | — | — | — | 3,50 | 3,29 | — | — | — | — | 3,08 | 3,94 |

Der Einfachheit halber wurden deshalb weiterhin nur die mit Leitungswasser hergestellten Lösungen gewählt; als geeignetste Versuchsdauer wurden für die Peptonversuche 5, für die drei Düngemittel 10 Tage angenommen.

Die von Oktober 1905 bis Juli 1906 ermittelten Werte finden sich in der folgenden Tabelle.

An durch Magnesia usta abspaltbarem Stickstoff sind in je 50 ccm der verschiedenen Lösungen folgende Mengen vorhanden: im sterilen Zustande: Pepton Merck 2,24 mg, Witte 0,24 mg, Schering 0,56 mg, Knochenmehl 0,56 mg, Hornmehl 1,68 mg, Blutmehl 0,42 mg.

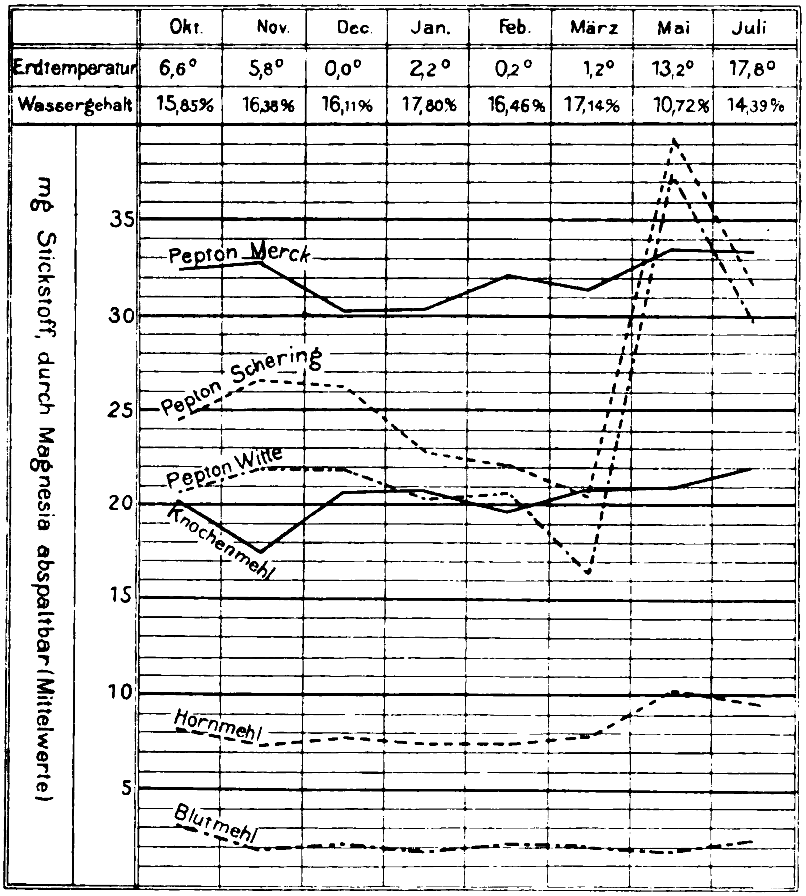
| Lösungen | Bodenprobe | Parallele | Okt. | Nov. | Dez. | Jan. | Febr. | März | Mai | Juli |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pepton Merck | I | a | 32,48 | 32,90 | 29,68 | 29,96 | 30,80 | 31,08 | 34,44 | 33,60 |
| | | b | 32,48 | 33,04 | 29,96 | 30,30 | 31,64 | 31,64 | 33,60 | 34,16 |
| | II | a | — | 33,04 | 30,24 | 31,08 | 32,76 | 31,08 | 32,48 | 33,60 |
| | | b | — | 32,76 | 30,80 | 29,96 | 33,04 | 31,64 | 32,76 | 32,48 |
| Pepton Witte | I | a | 21,00 | 21,28 | 21,28 | 20,72 | 20,44 | 17,36 | 37,24 | 30,80 |
| | | b | 20,16 | 22,42 | 22,12 | 21,00 | 20,16 | 17,36 | 38,08 | 30,52 |
| | II | a | — | 22.12 | 22,40 | 19,74 | 21,28 | 15,68 | 38,08 | 29,40 |
| | | b | — | 21,84 | 21.84 | 19,60 | 21,00 | 15,68 | 36,40 | 28,00 |
| Pepton Schering | I | a | 24,64 | 26,88 | 26,88 | 23,24 | 22,40 | 21,28 | 38,08 | 33,04 |
| | | b | 24,08 | 25,48 | 26,88 | 22,68 | 21,28 | 21,28 | 39,20 | 32,48 |
| | II | a | — | 26,32 | 26,04 | 22,96 | 22,54 | 20,16 | 39,20 | 31.64 |
| | | b | — | 27,72 | 25,20 | 22,68 | 21,84 | 19,60 | 40,04 | 30,52 |
| Knochenmehl | I | a | 20,44 | 17,36 | 22,40 | 21,28 | 19,46 | 20,44 | 19,60 | 20,44 |
| | | b | 19,60 | 16,80 | 20,72 | 21,84 | 18,76 | 19,46 | 20,44 | 21,28 |
| | II | a | — | 18,20 | 20,44 | 20,44 | 20,16 | 22,40 | 22,40 | 22,68 |
| | | b | — | 17,92 | 19,60 | 19,60 | 21,00 | 21,28 | 21,56 | 23,80 |
| Hornmehl | I | a | 8,26 | 7,28 | 7,84 | 8,40 | 7,70 | 7,56 | 10,08 | 9,10 |
| | | b | 7,84 | 7,56 | 8,40 | 7,84 | 7,28 | 7,70 | 9,24 | 9,24 |
| | II | a | — | 7,28 | 7,56 | 7,00 | 7,98 | 8,40 | 10,08 | 9,52 |
| | | b | — | 7,00 | 7,56 | 7,00 | 7,26 | 8,12 | 10,64 | 8,96 |
| Blutmehl | I | a | 3,08 | 2.24 | 2,10 | 1,68 | 1,96 | 1,96 | 1,96 | 2,24 |
| | | b | 3,08 | 1,96 | 2,10 | 1,96 | 1,96 | 1,96 | 1,68 | 2,24 |
| | II | a | — | 1,96 | 2,24 | 1,96 | 1,96 | 1,96 | 1,68 | 1,96 |
| | | b | — | 1,68 | 2,10 | 1,68 | 2,24 | 2,24 | 1,96 | 2,24 |

Setzt man die niedrigsten Mittelwerte = 100, so ergeben sich für die sechs benutzten Substanzen folgende Vergleichswerte:

| | Oktober | Nov. | Dez. | Januar | Februar | März | Mai | Juli |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pepton Schering | 118,4 | 129,2 | 126,9 | 111,6 | 107,0 | 100,0 | 190,1 | 155,2 |
| „ Witte | 124,6 | 132,6 | 132,6 | 122,7 | 125,4 | 100,0 | 226,7 | 179,7 |
| „ Merck | 107,6 | 109,1 | 100,0 | 100,5 | 106,2 | 103,9 | 110,4 | 110,0 |
| Knochenmehl | 113,9 | 100,0 | 118,3 | 118,3 | 112.8 | 119,0 | 119,5 | 125,5 |
| Hornmehl | 110.6 | 100,0 | 107,7 | 103,8 | 103,8 | 109,2 | 137,5 | 126,5 |
| Blutmehl | 169,2 | 107,7 | 117,6 | 100,0 | 111,5 | 111,5 | 100,0 | 119,2 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Geht schon hieraus hervor, daß keine durchgreifende Uebereinstimmung vorhanden ist, so lehrt ein Blick auf die nachstehende Kurventafel mit noch größerer Deutlichkeit, daß zwar die Ammoniakbildung aus Pepton Schering und Witte, aus Pepton Merck und Knochenmehl, sowie aus Hornmehl und Blutmehl einen mehr oder minder ähnlichen Verlauf aufwies, daß aber andererseits die beiden erstgenannten Peptonsorten sich von den übrigen vier Substanzen insofern scharf unterschieden, als sie zu Beginn des Sommers ein schroffes Ansteigen der Intensitätskurve zeigten, während die übrigen vier Kurven, wie ich dies für die Knochenmehlzersetzung schon in der Periode 1903/04 festgestellt hatte, im Winter wie im Sommer nur wenig von der Horizon-




talen abwichen. Vor Eintritt des Winters stieg der Zersetzungsgrad bei allen drei Peptonsorten, sank dagegen bei sämtlichen organischen Düngemitteln. Eine generelle „Fäulniskraft" des Bodens existiert demnach nicht; es muß vielmehr von Fall zu Fall geprüft werden, wie in dem betreffenden Boden unter den wechselnden Einflüssen der Jahreszeit, der Temperatur und des Feuchtigkeitsgehalts die Zersetzung der verschiedenen organischen Düngemittel verläuft.

In¦ Uebereinstimmung hiermit konstatierten Lipman und Vor-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hees in einer sehr beachtenswerten Arbeit[1]), daß in Lösungen von je 1 Proz.[2]) Pepton Witte, Kaseïn und Albumin, die mit verschieden gedüngter Erde gleichen Ursprungs geimpft waren, zwar ähnliche, aber doch nicht völlig analoge Effekte resultierten[3]). Desgleichen ergaben sich zwischen der Intensität der Peptonzersetzung und den Ernteresultaten der mit Kaliphosphat, z. T. auch mit tierischem Dünger gedüngten Vegetationsgefäße nicht durchweg entsprechende Beziehungen[4]).

Es ist ferner entschieden sehr beachtenswert, daß, wie ein Vergleich des Verlaufs der Kurven mit den darüber angegebenen Zahlen für Temperatur und Wassergehalt des Bodens klar hervortreten läßt, auch die Jahreszeit an sich einen maßgebenden Einfluß auf den Verlauf der Umsetzungen ausübt, der den Wirkungen der Temperatur und der Feuchtigkeit mitunter gerade entgegengesetzt sein kann. Diese Differenzen scheinen jedoch weniger in einem Wechsel der Art als vielmehr in einer Aenderung der Wirksamkeit der vorhandenen Ammoniakbildner begründet zu sein[5]). Viermal wurden die beteiligten aërob wachsenden Bakterien isoliert, einmal auch anaërobe Kulturen mit herangezogen; stets zeigte sich das gleiche Bild: in Pepton Merck fast ausschließlich Bact. fluorescens, in Pepton Schering und Witte Bact. putidum und punctatum, im Knochenmehl neben diesen beiden verschiedene Proteus-Varietäten und Micrococcus candicans, während Hornmehl und Blutmehl Bact. fulvum als charakteristische Art aufwiesen[6]).

Da einige Autoren bei der Durchführung ähnlicher Umsetzungsversuche ziemlich erhebliche Differenzen ihrer Befunde konstatieren, so dürfte ein kurzes Verweilen bei den analytischen Einzelheiten nicht überflüssig sein.

Die Stickstoffzahlen für die sterilen Kolben wurden in der Weise ermittelt, daß die mit 10 Proz. Erde beimpfte Lösung sofort destilliert wurde. Es ist nämlich, wie ich schon früher[7]) darlegte, nicht möglich, durch wiederholtes Erhitzen im strömenden Dampf die mit 10 Proz. Erde beimpften Lösungen sicher zu sterilisieren. Wird Sublimat hinzugefügt, so bleiben sie zwar unzersetzt, aber die durch Magnesia abspaltbaren Stickstoffmengen fallen meist (infolge der Einwirkung des Quecksilberchlorids) etwas niedriger aus. Erhitzt man dagegen, wie dies Ehrenberg[8]) tut, die mit Erde beimpften Vergleichskolben nur viermal im strömenden Dampf, so sind sie fast nie steril. Darauf weisen auch die von dem genannten Autor bei der Destillation erlangten Resultate hin[9]), die bei Parallelanalysen um 100 Proz. differieren

1) 26th Annual Rep. of the New Jersey State Agric. Exp. Station for the year 1905. p. 225.

2) Im Text steht mehrmals statt dessen 10 Proz., offenbar ein Schreib- oder Druckfehler, wie aus den Tabellen hervorgeht.

3) l. c. p. 246.

4) l. c. p. 239.

5) Es wurden z. B. in der Lösung von Pepton Merck folgende Schwankungen der Wirksamkeit bestimmter Arten konstatiert: Bact. fluorescens bildete an Ammoniakstickstoff 28—34 Proz., Bact. putidum 16—25 Proz., Micr. candicans 1,33—21,2 Proz. (Parr, l. c. p. 38).

6) Details bei Parr, l. c. p. 31—41. Die anaëroben Kulturen wurden im Mai angelegt und sind in jener Arbeit nicht mehr berücksichtigt. Sie ergaben einige besonders wirksame zu anaërober Lebensweise neigende Stämme von Bact. punctatum.

7) Habil.-Schrift. p. 14.

8) Ehrenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 156.

9) l. c. p. 161.

Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

(1,41—3,46 mg). Noch klarer wird die Sachlage, wenn man die betreffenden Kolben nicht nur einige Tage, sondern mehrere Wochen aufbewahrt, wie folgende Zahlen lehren. Es wurde an Stickstoff durch Magnesia abgespalten (in mg), wenn die Destillation erfolgte[1]):

| | sofort | | | | nach 4 Wochen | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | nach 1 mal Erhitzen | | nach 5 mal Erhitzen | | 1 mal erhitzt + Sublimat | | 5 mal erhitzt | |
| | a | b | a | b | a | b | a | b |
| Pepton Merck | 2,52 | 2,52 | 2,52 | 2,76 | 1,96 | 2,24 | 8,96 | 5,60 |
| „ Witte | 0,56 | 0,42 | 0,42 | 0,42 | 0,56 | 0,56 | 5,04 | 4,76 |
| „ Schering | 0,70 | 0,56 | 0,70 | 0,84 | 0,70 | 0,56 | 5,60 | 3,64 |
| Knochenmehl | 0,84 | 0,98 | 0,84 | 0,70 | 0,42 | 0,42 | 3,50 | 5,04 |
| Hornmehl | 1,82 | 1,96 | 1,96 | 2,24 | 0,56 | 0,42 | 2,80 | 1,40 |
| Blutmehl | 0,70 | 0,70 | 0,56 | 0,70 | 0,14 | 0,28 | 1,40 | 1,40 |

Das wiederholte Erhitzen änderte die Resultate nicht, die Sublimatkolben gaben zum Teil niedrigere Zahlen, von den 5mal je 15 Minuten im strömenden Dampf erhitzten 12 Kolben war nach 4 Wochen nur ein einziger (Hornmehl b) unzersetzt geblieben.

Berechnet man ferner auf Grund der in der Tabelle zusammengestellten Einzelresultate der von Oktober bis Juli durchgeführten Umsetzungsversuche die Maximaldifferenzen (in Proz. der Mittelwerte), so ergeben sich folgende Zahlen:

| | Für je 2 Parallelversuche (a und b) Proz. | Für die beiden Erdproben (I und II) Proz. |
|---|---|---|
| Pepton Merck | 3,5 | 5 |
| „ Witte | 4 | 6,5 |
| „ Schering | 5,5 | 5 |
| Knochenmehl | 8 | 10,5 |
| Kornmehl | 8 | 15 |
| Blutmehl | 14 | 14 |

Daß die Differenzen bei den drei Düngemitteln etwas höher sind als in den Peptonversuchen, hat jedenfalls seinen Grund darin, daß die Mehle wegen ihrer Schwerlöslichkeit in Einzelportionen in die Kölbchen abgewogen werden mußten, während für die Peptonversuche je 50 ccm der homogenen Lösung abpipettiert werden konnten. Außerdem steigen die Differenzen entsprechend der Verringerung der umgesetzten Quantitäten. Die relativ höchste Differenz beim Blutmehl ist absolut sehr gering: 0,28 mg. Die einmal beim Hornmehl vorkommende Maximaldifferenz von 15 Proz. = 1,12 mg verdankt möglicherweise einem analytischen Fehler ihre Existenz; wenigstens kamen in den anderen 6 Monaten nur Schwankungen von 0,07—0,70 mg vor. Jedenfalls bestätigen die Versuche von neuem, daß dann, wenn der Boden des betreffenden Feldes hinreichend gleichmäßig ist und beim Arbeiten mit der nötigen Sorgfalt verfahren wird, die resultierenden Abweichungen nicht größer sind, als sie bei Felddüngungsversuchen ebenfalls in Kauf genommen werden müssen. Daß gelegentlich infolge wechselnder Bodenbeschaffenheit auch viel stärker abweichende Resultate erhalten werden können, vermindert die Brauchbarkeit der Methode in keiner Weise; ganz ebenso, wie mißlungene Felddüngungsversuche nichts besagen gegenüber dem hohen Wert der günstig verlaufenen. Im Gegenteil wird, wenn erst der Kreis der Erfahrungen auf diesem Gebiete hinreichend erweitert ist, diese Methode

1) Cf. Parr, l. c. p. 14, 15.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wohl gerade besonders dazu geeignet sein, störende Ungleichheiten eines zu Düngungsversuchen ins Auge gefaßten Feldstücks rechtzeitig aufzudecken, damit einer Verschwendung von Zeit uud Mühe sicher vorzubeugen, uns aber außerdem über die Ursachen der mitunter hervortretenden Differenzen der Ernten von Parallelparzellen weit gründlicher zu unterrichten als dies agrikulturchemische und -physikalische Untersuchungen je zu tun vermögen.

Die Untersuchungen Gutzeits[1]) haben gleichfalls gezeigt, daß sich die Abweichungen innerhalb recht enger Grenzen halten können; namentlich gilt dies für die späteren Untersuchungen. Ebenso ergeben sich für die von Lipman und Voorhees[2]) durchgeführten Peptonzersetzungsversuche zwischen den mit derselben Erdprobe beimpften Parallelkolben nur ca. 2, bei Verwendung von gleichbehandelter Erde aus verschiedenen Vegetationsgefäßen 4—8 Proz. Maximaldifferenz, obwohl die genannten Autoren zum Abwägen der Erdproben nicht die Analysenwage benutzten; eine Bestätigung der von mir vertretenen Ansicht[3]), daß an dieser Stelle peinlichste Genauigkeit nicht nötig ist.

Buhlert und Fickendey[4]) haben nun allerdings gegen das Remysche Verfahren eingewandt, daß es ihnen nicht möglich gewesen sei, auf diesem Wege brauchbare Resultate zu erlangen. Als Grund führen sie an, daß 1) die Stickstoffmengen, die man durch die Impfung den Lösungen zuführt, bei Parallelversuchen recht verschieden seien und 2) liege der „Hauptfehler“ des Verfahrens darin, daß „die Impfmengen viel zu klein“ seien. Als Beleg für die erste Angabe führen sie die allerdings recht beträchtlich differierenden Stickstoffzahlen für 1 g Erde an, während bekanntlich nie 1, sondern stets 5—10 g Erde in 50—100 ccm Lösung eingetragen werden. Dabei sind die relativen Schwankungen aber viel geringer als sie die genannten Autoren bei 1 g fanden. Eine Impfmenge von 1 g ist sicherlich „viel zu klein“, aber 5—10 g kann man doch kaum als „viel zu klein“ bezeichnen. Und wenn Buhlert und Fickendey statt dessen 20 ccm einer Bodenaufschwemmung (aus 300—500 g Erde mit der gleichen Menge Wasser bereitet) verwenden, so entspricht diese Impfmenge ebenfalls 10 g Erde. Die gut übereinstimmenden Stickstoffzahlen für dieses Quantum den stark differierenden für 1 g Erde gegenüberzustellen und daraus einen Schluß zu Ungunsten der Remyschen Methode zu ziehen, dürfte aber doch kaum statthaft sein.

Zweifellos spricht andererseits die größere Handlichkeit des vorgeschlagenen modifizierten Verfahrens zu dessen Gunsten, wenn es auch noch sehr dahingestellt bleiben muß, ob man namentlich beim Arbeiten mit tonreichen Böden bei Innehaltung des angegebenen Verhältnisses zwischen Erde und Wasser eine gute Durchmischung des Materials erreicht und ob sich das Abpipettieren in erwünschter Weise bewerkstelligen läßt. Notwendig wäre es aber m. E. jedenfalls gewesen, eingehendere vergleichende Untersuchungen auszuführen, nachdem die Gangbarkeit des von Remy beschrittenen Weges schon soweit sichergestellt war. Die wenigen mitgeteilten Zahlen scheinen mir nichts darüber zu besagen, ob die vorgeschlagene Aenderung des Impfverfahrens

1) Gutzeit, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 367.
2) Lipman and Voorhees, l. c. p. 229 ff.
3) Habil.-Schrift. p. 15.
4) Buhlert und Fickendey, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 399.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(abgesehen von der größeren Handlichkeit) wesentliche Vorzüge besitzt.

Ganz entschieden gegen die Zulässigkeit der Verwendung einer Bodenaufschwemmung sprechen die von Lipman und Voorhees festgestellten Tatsachen[1]). Diese Autoren benutzten ebenfalls zu einer Versuchsreihe Bodenaufschwemmungen, die sie aus 100 g Erde + 200 ccm Wasser herstellten, versäumten dabei aber nicht, die entsprechenden Versuche mit Erdimpfungen zum Vergleich heranzuziehen. Es ergaben sich für die verschieden gedüngten Böden (No. 1—4) bei 82-stündiger Versuchsdauer folgende Resultate (mg abspaltbarer Stickstoff in 50 ccm Lösung):

| Boden | No. 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Erdimpfung | 36,85 | 42,45 | 47,32 | 49,04 |
| Aufschwemmung | 22,23 | 15,92 | 28,11 | 25,81 |

„Where the soil infusions were used the yields of ammonia nitrogen were smaller and the relations brought out in the soil inoculations failed to appear.“ Und unter Beachtung der Ergebnisse der Vegetationsversuche resultiert, „that the liberation of ammonia in peptone solutions finds an analogy in the decay of the organic nitrogenous compounds in the corresponding soil only when both soil and its bacteria are allowed to act on the solution; in other words, comparatively large quantities of soil must be used for inoculation. The use of soil infusion fails to yield the same results, evidently because the bacteria, when detached from their environment, do not maintain the same species relations. This fact is of great significance, not only for soil inoculation problems, but for all soil improvement problems.“

Es ist hinlänglich bekannt, daß dann, wenn zum Beimpfen der Lösungen relativ reichliche Erdmengen verwendet werden, die Umsetzungen oft viel lebhafter verlaufen, als wenn einige Oesen Roh- oder Reinkultur eingebracht werden. Die Arbeiten von Lipman und Voorhees sowie von Parr haben dies für die Peptonzersetzung, diejenige von Keding[2]) für die Stickstoffassimilation von neuem bestätigt. Daß dieselben Umstände sich aber auch bei der Anwendung von Bodenaufschwemmungen geltend machen können, geht mit voller Klarheit aus den zitierten Befunden hervor; die von Buhlert und Fickendey vorgeschlagene Modifikation verdient demnach durchaus nicht den Vorzug vor dem von Remy empfohlenen Verfahren, die Lösungen mit 10 Proz. Erde zu beimpfen.

Nun läßt es sich ja allerdings unschwer erreichen, die Lösungen mit so reichen Nährstoffmengen zu versehen, daß auch dann, wenn keine oder nur wenig Erde zugegen ist, die eingeimpften Bakterien die Umsetzung mit gleicher Intensität bewirken. Dabei macht sich jedoch der Nachteil geltend, daß in diesem Falle auch die durch die Verschiedenartigkeit des Ausgangsmaterials bedingten Differenzen in kürzester Frist mehr oder weniger vollständig verschwinden. Die nachstehenden, den Untersuchungen Lipmans und Voorhees entnommenen Zahlen sind sehr instruktiv. Die Peptonlösung wurde durch Zusatz von 0,5 ‰ $K_2HPO_4$, 0,2 ‰ $MgSO_4$ und 0,02 ‰ $CaCl_2$ verbessert, durch NaOH schwach alkalisch gemacht und, entsprechend den soeben mitgeteilten Versuchen, teils mit Erde, teils mit Erdaufschwemmung beimpft. Nach 82-stündiger

1) l. c. p. 240 ff.
2) Keding, Wissenschaftliche Meeresuntersuch. Abt. Kiel. N. F. Bd. IX. p. 289—295.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsdauer waren in je 50 ccm an durch Magnesia abspaltbarem Stickstoff folgende Mengen (in mg) vorhanden:

| Boden No. | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Erdimpfung | 46,75 | 45,17 | 45,17 | 45,46 |
| Aufschwemmung | 42,88 | 41,59 | 43,30 | 46,17 |

Auch hier erwies sich also die Erde im allgemeinen doch noch etwas wirksamer als die Erdaufschwemmung, die Unterschiede zwischen den verschieden gedüngten Böden verschwinden dagegen fast vollständig. Die von mir [1]) von vornherein ins Auge gefaßte Notwendigkeit, daß die verwendeten Lösungen so beschaffen sein müssen, daß die Umsetzungen „innerhalb einer angemessenen Zeit hinreichend, aber nicht zu weit fortschreiten", ist hier gleichfalls hervorgetreten. Die Autoren sagen mit Recht: „The use of media that would permit a study and differentiation of the various processes from day to day is essential in investigation of soil bacteriological problems." In dieser Richtung bedarf es vor allem eindringender Arbeit. Ein Extrakt des betreffenden Bodens bezw. der Erde der verschieden behandelten Teilstücke scheint namentlich für die Ammoniakbildung aus Harnstoff und Calciumcyanamid, ferner für die Nitrifikation, Denitrifikation, sowie für die Stickstoffassimilation als Stammflüssigkeit von Vorteil zu sein, während man in den Fällen, wo reichliche Mengen organischer Substanzen komplizierter Zusammensetzung (Knochenmehl, Hornmehl etc.) zur Anwendung kommen, wie es scheint, die einfacheren wässerigen Lösungen mit gleichen Nutzen verwenden kann. Auch die geeignetsten Konzentrationen bedürfen noch näherer Prüfung [2]).

Als feststehend dürfen wir dagegen annehmen, daß die Verwendung von 10 Proz. Erde die zuverlässigsten Resultate gibt. Ebenso liegt kein Grund vor, von der bisher von fast allen Autoren in Anwendung gebrachten Temperatur (Zimmertemperatur 20° C) abzuweichen. Buhlert und Fickendey haben ohne ersichtlichen Grund statt dessen 25° gewählt. So hohe Temperaturen kommen indessen in unserem Klima, von der Oberflächenschicht abgesehen, kaum jemals im Boden vor. Eher könnte man geneigt sein, auf niedrigere Temperaturen, etwa 15°, herabzugehen, wenn sich dabei nicht, namentlich während der Sommermonate, erhebliche praktische Schwierigkeiten ergeben würden. Ist es doch ohnehin schon nicht leicht, namentlich in größeren Zimmern, eine leidlich konstante Temperatur zu erhalten, und die Anschaffung kostspieliger großer Thermostaten stößt bei der Aschenbrödelstellung, die die Agrikulturbakteriologie vielfach noch einzunehmen gezwungen ist, in der Regel ebenfalls auf bedenkliche Hindernisse [3]).

Im übrigen scheint es mir aber von größter Bedeutung, daß die Fragestellung bei derartigen Versuchen möglichst klar und einfach gewählt wird. Die von Parr ermittelten Befunde zeigen von

1) Habil.-Schrift. p. 7.

2) Bei Parrs Versuchen ergaben sich für die Knochenmehllösung, zu deren Bereitung aus den dargelegten Gründen 3 Proz. Substanz verwendet wurden, während ich früher (zum Vergleich mit der Kalkstickstofflösung) nur 0,6 Proz. benutzte, mit den meinen fast völlig übereinstimmende Resultate. Ich fand, daß 23—31 Proz. des Knochenmehls in Ammoniak umgewandelt wurden, bei Parr waren es 23—33 Proz. Daß ich die Kolben bis zur Destillation 3 Wochen aufbewahrte, ist, wie aus den oben mitgeteilten Versuchen über die geeignetste Versuchsdauer sich ergibt, belanglos.

3) Einen verhältnismäßig sehr billigen, großen Thermostaten, der die Temperatur von 20° C bei niedriger wie bei hoher Außentemperatur ausgezeichnet hält, habe ich nach Entwürfen Dr. W. Kuntzes für das hiesige Laboratorium bauen lassen. Er wird in No. 19/21 dieser Zeitschrift abgebildet und beschrieben werden.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:36 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

neuem, daß wir wohl zunächst dahin streben müssen, Ursachen und Verlauf der differenten Umsetzungen in einem Boden zu erforschen, denn werden verschiedene Böden zum Vergleich herangezogen, so können sich Differenzen ergeben, die mehr den augenblicklichen als den durchschnittlichen biologischen Charakter der betreffenden Böden widerspiegeln. Allerdings möchte ich in dieser Beschränkung nicht so weit gehen, wie dies Lipman und Voorhees tun, indem sie sagen[1]: „It would seem, that the method has its limitations for soils of the same origin." Ich meine, daß später, wenn erst einmal hinlänglich bekannt ist, wie die verschiedenen Faktoren: Jahreszeit, Temperatur, Feuchtigkeit, Durchlüftung, Lage- und Strukturänderung der Bodenschichten bei der Bearbeitung, verschiedene Düngung und Bestellung auf bestimmte Bodenarten einwirken, sich auch sicherlich wertvolle Anhaltspunkte für vergleichende Untersuchungen differenter Böden ergeben werden. So ist es, um wenigstens ein Beispiel anzuführen, jedenfalls nicht uninteressant, daß auf unserem schweren, eisenreichen, wenig „tätigen" Oberholzer Boden (mit reichlich 40 Proz. abschlemmbaren Teilen) die Zersetzung der verschiedenen Peptonsorten stets sehr unvollkommen verläuft (auch bei längerer Versuchsdauer steigt sie wenig über 40—50 Proz. an) und daß auch in New Jersey Lipman und Voorhees für ähnlichen roten, schweren Lehmboden ganz analoge Resultate erhielten (nach 8 Tagen 40—50 Proz., zum Teil schon wieder im Abnehmen begriffen), während Remy[2]) für leichtere, „tätige" Böden (mit 3—24 Proz. abschlemmbaren Teilen) innerhalb 8 Tagen eine viel lebhaftere Umsetzung (von 71—86 Proz.) erzielte. Aus den Untersuchungen Wohltmanns, H. Fischers und Schneiders und ebenso aus den von Lipman und Voorhees ausgeführten geht aber weiter mit voller Klarheit hervor, wie durch die Düngung der biologische Charakter eines bestimmten Bodens beeinflußt werden kann und dessen Feststellung einen sicheren Anhalt für den momentanen Fruchtbarkeitszustand gewährt. Desgleichen zeigen die Untersuchungen Gutzeits, daß wir auch über die Einwirkung, die das Pflanzenwachstum auf den Boden ausübt, mit Hilfe der Remyschen Methode in absehbarer Zeit wichtige Einblicke werden erlangen können. Was dagegen die allerdings ganz hervorragend interessanten Einwirkungen der Bodenbearbeitung anlangt, so sind meines Erachtens hier noch erhebliche Schwierigkeiten zu überwinden. Keineswegs liegen die Dinge so einfach, wie Buhlert und Fickendey annehmen, die den Boden in einer praktisch ganz unmöglichen Weise behandeln, indem sie ihn 2 Wochen hindurch alle 2 Tage auf Spatenstichtiefe umgraben lassen und ihn dann als „durchlüftet" dem unbearbeiteten Boden gegenüberstellen. Daß dabei keineswegs allein die Durchlüftung, sondern ebenso die Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse geändert, und auch das Wachstum und die Tätigkeit der Bodenorganismen (wie dies aus den einschlägigen französischen Arbeiten hinlänglich bekannt sein sollte) mechanisch beeinflußt werden, wird gar nicht berücksichtigt. Daß bei zu oft wiederholter Bearbeitung die „Tätigkeit" des Bodens im allgemeinen nicht gesteigert wird, sondern der Acker dadurch eher „tot" gepflügt und geeggt wird, weiß jeder erfahrene praktische Landwirt. Soll der Einfluß der Bodenbearbeitung auf die im Boden stattfindenden Umsetzungen untersucht

1) l. c. p. 233.
2) Remy, l. c. p. 661.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden, dann müssen zweifellos die angewandten Maßnahmen den in der Praxis üblichen entsprechen und ebenso darf dann nicht ausschließlich ein Gesichtspunkt unter Vernachlässigung aller übrigen in den Vordergrund gerückt werden. Wie die hier entgegenstehenden Hindernisse beseitigt werden können, muß freilich noch ganz der Zukunft überlassen bleiben; aber die in Aussicht stehende bedeutsame Erweiterung unseres Wissens wird sicherlich die aufzuwendenden Mühen reichlich lohnen.

Leipzig, 6. Oktober 1906.

## Corrigendum.

In der Arbeit von Harald R. Christensen, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden in Bd XVII. No. 3/4 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. auf p. 112 Zeile 3 soll es heißen: „100 Zentner" statt „10 Zentner".

## Inhalt.

**Boekhout, F. W. J.** und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäsereifung, p. 491.
**Cruchet, Paul**, Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées. (Suite), p. 497.
**Fuhrmann, Franz**, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Forts.), p. 453.
**Hutchinson, H. B.**, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Forts.), p. 417.
**Kohn, E.**, Weitere Beobachtungen über saccharophobe Bakterien, p. 446.
**van der Leck, J.**, Aromabildende Bakterien in Milch. (Forts.), p. 480.
**Löhnis, F.** und **Parr, A. E.**, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. III., p. 518.
**Müller, Leo**, Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft. nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken, p. 468.
**Rivas, D.**, Contribution concerning the purification of water by ozone, p. 506.
**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Forts.), p. 428.

**Corrigendum**, p. 528.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 17/18.**

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

**Bakteriolog. Laborat. d. schweizer. landw. Versuchs- u. Untersuchungsanstalten in Bern.**

# Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung.

Von

**Dr. Ed. v. Freudenreich,** und **Dr. Orla Jensen,**

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der schweizer. landwirtschaftl. Versuchs- und Untersuchungsanstalten

Vorstand der schweizer. milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

In einer in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit [1]) hat der eine von uns gezeigt, daß die in Emmentalerkäsen gebildeten flüchtigen Fettsäuren hauptsächlich aus Propionsäure und Essigsäure bestehen, während Buttersäure nicht in größerer Menge vorkommt als von der geringen Fettspaltung herrühren kann. Daß die Bildung dieser Säuren der Tätigkeit von Bakterien zu verdanken ist, hat sich daraus ergeben, daß kleine, aus möglichst aseptisch gewonnener Milch hergestellte Käse fast keine flüchtigen Fettsäuren enthalten, während sie wiederum in den Kulturen der Milchsäurefermente, die nach unserer Ansicht einen Hauptfaktor der Käsereifung bilden, enthalten sind. Schwierig indessen blieb zu erklären, wie denn eine so große Menge Propionsäure im Käse gebildet werden könne, denn in den erwähnten Kulturen findet man hauptsächlich Essigsäure und nur sehr wenig Propionsäure. Freilich könnte hier die Verschiedenheit der äußeren Bedingungen, wie z. B. größere Anaërobiose im Käse, verschiedene chemische Zusammensetzung von Käse und Milch usw. diese Erscheinung zum Teil erklären; indessen war doch der Gedanke nahe gelegt, nach spezifischen Propionsäurebildnern im Käse zu suchen, zumal die Resultate einiger Vorversuche Erfolg versprachen. Um solche Propionsäurebildner zu isolieren, bedienten wir uns zunächst eines Anreicherungsverfahrens, indem wir einige Tropfen von Käseemulsion in eine geeignete Nährflüssigkeit einimpften. Als solche wählten wir eine Lösung bestehend aus [2]):

| | | |
|---|---|---|
| Wasser | 1000 | ccm |
| Pepton Witte | 20 | g |
| Dikaliumphosphat | 2 | „ |
| Kochsalz | 5 | „ |
| Milchsaurer Kalk | 20 | „ |

die wir in Flaschen mit Patentverschluß verteilten. In der Tat entstand fast regelmäßig eine Propionsäuregärung, wie die Analyse der gebildeten flüchtigen Säuren zeigte. Um die Kulturen möglichst zu reinigen, machten wir zunächst mehrere Passagen in der gleichen Nährflüssigkeit und legten

1) Orla Jensen, Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß unter spezieller Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren. (Diese Zeitschrift Bd. XIII. 1904. p. 161.)

2) Unter Peptonbouillon verstehen wir in dieser Arbeit die gleiche Nährlösung ohne milchsauren Kalk.



Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

dann Gelatineplatten und Schottenagarschüttelkulturen an. Wir bekamen zunächst nur Kolonieen von Bact. lactis acidi. Dieselben wurden auf Schottenagar verimpft und dann wieder in unsere Nährflüssigkeit eingesät, in welcher zuweilen wieder eine Propionsäuregärung sich einstellte, so daß wir anfänglich glaubten, daß wir es mit einer besonderen Varietät des Bac. lactis acidi zu tun hätten. Indessen schlugen auch viele Impfungen fehl, so daß wir uns fragen mußten, ob nicht die wirksamen Agarkulturen, mit welchen wir die Impfungen vorgenommen hatten, außer dem B. lactis acidi noch einen anderen Mikroorganismus enthielten. Da sie jedoch unter dem Mikroskop rein zu sein schienen, dachten wir zunächst, daß möglicherweise unsichtbare Bakterien im Spiele seien. Wir filtrierten daher die gärende Nährflüssigkeit durch kleine Berckefeldsche Filter, welche die gewöhnlichen Bakterien zurückhalten, die sogenannten unsichtbaren aber durchlassen sollen und impften das Filtrat in frische Nährflüssigkeit. In keiner Flasche trat Gärung auf. Wir hatten es also offenbar nicht mit unsichtbaren Bakterien zu tun. Auch zeigte uns jetzt die mikroskopische Untersuchung nicht bloß der Ausgangskultur des betreffenden B. lactis acidi, sondern auch der gärenden Flüssigkeit, daß Formen vorkamen, die vom gewöhnlichen B. lactis acidi etwas verschieden, mehr stäbchenförmig waren. Wir impften daher immer von Flasche zu Flasche über und legten, sobald Gärung eintrat, wiederum Schottenagarschüttelkulturen an. In denselben wurden wir einmal einige Kolonieen gewahr, die sich durch eine etwas eckige Form auszeichneten und den Agar nicht so rasch trübten, wie es die Kolonieen des Bact. lactis acidi tun. Jene Kolonieen wurden auf Schottenagar weiter verimpft und später in Bouillon mit milchsaurem Kalk ausgesät. Hier entstand nun regelmäßig eine Propionsäuregärung und es war ein leichtes, aus solchen Flaschen, die nur den Propionsäurebildner enthielten, denselben in Schottenagarschüttelkulturen oder in Stichkulturen zur Entwickelung zu bringen. Wenn dagegen die Kulturen unrein sind und B. lactis acidi enthalten, gelingt die Isolierung, wie gesagt, nur schwer, weil B. lactis acidi schneller wächst und die gebildete Säure dem Wachstum des Propionsäurebildners hinderlich zu sein scheint. Einige Beispiele aus unseren Versuchen werden diese Verhältnisse am besten illustrieren.

I. Impfung einiger Tropfen der Emulsion eines guten Käses in eine Flasche Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk. Nach eingetretener Gärung viermalige Weiterüberimpfung und Untersuchung der Flasche fünfter Generation. Der Geruch war identisch mit dem Geruche, der später bei Verimpfung der Reinkulturen des Propionsäurebildners auftrat. Die Destillationszahl (Destillation mit Wasserdampf, vergl. später) betrug 116. In den mikroskopischen Präparaten B. lactis acidi, einige Bac. casei ε ähnliche Bacillen und unregelmäßig gestaltete kleine Bacillen. Ein Stich in Schottenagar gab B. lactis acidi, und wie es schien, Bac. casei ε, δ und vielleicht auch α. Die 4 ersten Schüttelagarröhren gaben zu viel Kolonieen, scheinbar alles B. lactis acidi. Röhre V gab 10—12, Röhre VI 2 Kolonieen von B. lactis acidi. Zwei derselben werden in unsere Nährflüssigkeit geimpft. In der einen tritt keine Gärung auf, die zweite gärt (Destillationszahl 89). Von dieser werden nun wieder Schottenagarschüttelkulturen angelegt. Man bekommt nur Kolonieen von Bact. lactis acidi. Zwei derselben werden abgeimpft, aber sie veranlassen keine Gärung. In der gärenden Flüssigkeit zeigte das mikroskopische Bild nebst Bact. lactis acidi noch kleine

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unregelmäßig gestaltete Bacillen. Es muß also die B. lactis acidi-Kolonie, welche die Gärung veranlaßt hatte, nicht rein gewesen sein.

Von der Flasche fünfter Generation war bei der Untersuchung gleichzeitig eine sechste Flasche geimpft worden. In derselben entstand auch die typische Gärung. In den Präparaten sah man wiederum Bact. lactis acidi nebst kleinen unregelmäßigen Bacillen. Von den angelegten Schottenagarschüttelkulturen waren die 4 ersten unbrauchbar, da sie zu viel Kolonieen enthielten und der Agar durch das Wachstum des Bac. lactis acidi ganz trübe geworden war. Röhre V gab 20 Kolonieen dieses Bakteriums. Dieselben zeigten, in unsere Nährlüssigkeit eingeimpft, kein Gärvermögen. Röhre VI dagegen enthielt keine B. lactis acidi-Kolonieen, sondern nur eine Anzahl scheibenförmiger oder eckiger Kolonieen, die beide das gleiche etwas unregelmäßig gestaltete Stäbchen gaben. Röhre VII gab einige Kolonieen des gleichen Bacillus nebst B. lactis acidi. Aus Röhre VIII gewann man wiederum nur B. lactis acidi. Das isolierte Stäbchen in Bouillon mit milchsaurem Kalk eingeimpft brachte die typische Gärung hervor. In 7 Tagen war die Destillationszahl = 27, nach 4 Wochen = 124. Diese Gärung ließ sich dann leicht von Flasche zu Flasche weiter übertragen.

II. Versuche mit einem im Dezember 1904 gekauften guten Marktkäse. Impfung einiger Tropfen einer Emulsion desselben, Gärung, Destillationszahl nach 13 Tagen 32,5. Typischer Geruch. In den Präparaten B. lactis acidi sind kurze Stäbchen, fast wie ovale Kokken, zu sehen. Die meisten Agarröhren geben B. lactis acidi und B. casei $\delta$. Ersteres bringt keine Gärung hervor. Aus anderen Röhren werden dagegen einige Kolonieen eines etwas unregelmäßig gestalteten Stäbchens sowie ganz kleine Kolonieen eines ähnlichen, aber kleineren Bakteriums isoliert. Beide bringen in unsere Bouillon verimpft die typische Gärung hervor. Destillationszahl 109,3 und 81,2, nach 4 und 3 Wochen,

III. Versuche mit einem sehr guten Emmentalerkäse. Impfung einer Flasche Bouillon mit milchsaurem Kalk, typische Gärung, Destillationszahl 112,5. In den Präparaten B. lactis acidi nebst einigen kleinen Stäbchenformen. Aus den 4 ersten Röhren ließen sich nur Bac. lactis acidi und Bac. casei $\delta$ isolieren. Ersteres bringt keine Gärung hervor. In Röhre IV waren auch einige ganz kleine Kolonieen sichtbar, aber so klein, daß man sie aus den umliegenden Kolonieen des B. lactis acidi nicht herauspräparieren konnte.

Röhre V gab anfänglich nur 6 Kolonieen von B. lactis acidi. Später kamen noch einige eckige Kolonieen zum Vorschein, die den früher angetroffenen unregelmäßig gestalteten Bacillus enthielten. Die Röhre VII gab nur B. lactis acidi. Das aus den eckigen Kolonieen isolierte Stäbchen brachte die typische Gärung hervor.

IV. Großgelochter Käse. Impfung wie gewohnt. Es wird eine Flasche zweiter Generation, welche die typische Gärung zeigt, untersucht. Die Kultur ist erst 14 Tage alt und hat eine Destillationszahl von nur 32,5. Aus den angelegten Agarröhren konnte man nur B. lactis acidi und B. casei $\alpha$ isolieren. Aus einer dritten Flasche, die älter war und deren Destillationszahl 145 betrug, erhielt man außer B. lactis acidi einige der erwähnten eckigen Kolonieen, enthaltend das unregelmäßig gestaltete Stäbchen; dasselbe brachte in unserer Nährbouillon die gleiche Gärung hervor.

V. Käse der Käserei Zimmerwald. Untersucht wurde eine Flasche zweiter Generation. Destillationszahl 106. In den Präparaten Bac.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lactis acidi und kleine Bacillen. Dieses Mal erhält man fast nur Kolonieen eines etwas unregelmäßigen Bacillus, der Propionsäuregärung hervorruft. Daneben nur einige Kolonieen B. lactis acidi und eine Kolonie B. casei δ aufgefunden.

Aus einer Flasche dritter Generation wird ebenfalls der gleiche unregelmäßige Bacillus gezüchtet.

VI. Wie erwähnt, hatten wir früher einige Male bei Einimpfung eines B. lactis acidi eine Propionsäuregärung bekommen. Eine solche Flasche, deren Destillationszahl 125 betrug, wurde analysiert. Die Agarröhren und auch Gelatineplatten gaben nur Kolonieen von B. lactis acidi; aber keine derselben konnte Propionsäuregärung hervorbringen. Ein anderes Resultat dagegen hatten wir mit Flaschen, die mit scheinbar koloniefreien Stellen der Gelatine geimpft wurden; in einer derselben fand eine Propionsäuregärung statt und aus der gärenden Flüssigkeit isolierten wir ein kleines Bakterium, das mit dem sub II erwähnten kleineren Stäbchen identisch war.

Von der untersuchten Flasche waren weitere Impfungen in die gleiche Nährflüssigkeit vorgenommen worden. Die Flaschen der 7. und 8. Generation wurden bakteriologisch untersucht. Sie enthielten beide B. lactis acidi nebst kleinen Bakterien, aber dieses Mal konnte nur B. lactis acidi isoliert werden.

VII. Versuche mit einem zweiten großgelochten Käse. Untersuchung einer Flasche zweiter Generation. In den Präparaten B. lactis acidi und kleine Stäbchen. Isoliert wurden nur B. lactis acidi und B. casei α.

Darauf wurde die Flasche dritter Generation in gleicher Weise untersucht. In einer einzigen Agarröhre fanden wir außer B. lactis acidi einige der eckigen Kolonieen. Aus derselben isolierten wir ein Propionsäuregärung hervorrufendes Stäbchen.

Wir könnten noch mehr ähnliche Versuche anführen, aber diese genügen, um zu zeigen, daß die Isolierung dieser Propionsäurefermente trotz einem Anreicherungsverfahren nicht immer leicht gelingt. Wir haben natürlich auch andere Nährböden probiert, z. B. Agar mit milchsaurem Kalk; in demselben wuchsen sie aber schlechter als im Schottenagar. Merkwürdig ist, daß man oft aus einer gärenden Flasche nur B. lactis acidi isoliert, trotzdem der Propionsäurebildner in der gärenden Flüssigkeit mit dem Mikroskop deutlich zu erkennen ist. Zuweilen findet man eine Röhre, die mehrere Kolonieen desselben enthält, während alle anderen nur B. lactis acidi geben. Letzterer Mikroorganismus entwickelt sich, wie bereits erwähnt, schneller, und die von ihm ausgehende Säurebildung scheint dem Wachstume der Propionsäurebildner hinderlich zu sein.

Nachdem wir nun eine Anzahl solcher Propionsäurefermente isoliert hatten, verglichen wir diese verschiedenen Stämme miteinander, um festzustellen, ob eine oder mehrere Varietäten vorlagen.

Die aus den sub I, II, III, IV und VII angeführten Käsen isolierten, etwas unregelmäßigen Stäbchen erwiesen sich als identisch und wurden später noch aus anderen Käsen isoliert. Wir nannten sie **Bacterium acidi propionici b.** Das in Käse II neben demselben gefundene, noch kleinere Bakterium, das auch in Käse VI angetroffen wurde, erhielt den Namen **Bacterium acidi propionici a.** Dasselbe wurde in der Folge auch in anderen Käsen nachgewiesen.

Aus dem Käse sub V wurde ein Bacillus isoliert, den wir **Bacillus acidi propionici** nannten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gleichzeitig suchten wir diese Propionsäurefermente auch direkt aus Käse zu isolieren und ihre Verbreitung in demselben kennen zu lernen. Zu diesen Untersuchungen verwendeten wir 3 Käse, von denen die zwei letzteren ganz besonders große Löcher hatten. Da die Propionsäurebildner bis jetzt am besten in Schottenagar gewachsen waren, wurden Schottenagarschüttelkulturen angelegt. Die ersten Verdünnungen gaben nur die gewöhnlichen Milchsäurefermente und zwar in so großer Anzahl, daß die Nährböden durch die Säurebildung ganz trübe wurden. Erst in den Röhren, die weniger Kolonieen enthielten und die lange genug aufbewahrt wurden, traten hie und da einige kleinere Kolonieen auf, die in den ersten Tagen keine Säure bildeten und daher auch keine Trübung im Agar verursachten und welche den gesuchten Propionsäurebildner enthielten. Es lag hier etwas ähnliches vor wie bei der Untersuchung der gärenden Nährbouillon, nämlich eine gewisse Unregelmäßigkeit im Auftreten dieser Kolonieen; in manchen Röhren findet man keine und dann plötzlich mehrere in einer anderen Röhre. Daher sind auch diese Mikroorganismen bei früheren Untersuchungen nicht weiter beachtet worden; es ist uns ganz gut erinnerlich, manchmal solche Kolonieen beobachtet zu haben, aber sie wurden als zufällige Verunreinigungen angesehen.

Mittels der Agarröhren ließen sich aber, wie man sieht, keine Zählungen vornehmen; zu diesem Zwecke verwendeten wir daher die alte Pasteursche Verdünnungsmethode. Es wurden aus den Käseemulsionen Verdünnungen hergestellt und genau abgemessene Mengen der letzteren in eine Anzahl Flaschen mit unserer Nährbouillon geimpft. Entsteht in allen Flaschen Gärung, so kann man annehmen, daß mindestens ein Keim in der eingeimpften Käsemenge enthalten war; tritt nur in einigen Flaschen Gärung ein, so ist das ein Beweis, daß die eingeimpfte Käsemenge nicht immer einen solchen Keim enthält. Man erhält somit ein ungefähres Bild von der Verbreitung der betreffenden Bakterien.

Bei der Untersuchung des ersten Käses wurden nur 2 Flaschen mit 0,02 g Käse geimpft, 10 mit 0,002 g und 10 mit 0,0001 g. Die beiden mit 0,02 g geimpften Flaschen gärten, ebenfalls alle mit 0,002 g geimpften, was also mehr als 500 Propionsäurebildnern per Gramm entspricht. Von den 10 letzten Flaschen gärten 7, woraus zu schließen ist, daß nicht ganz 10000 solcher Bakterien im Gramm enthalten waren.

Bei den 2 anderen Käsen gärten die meisten Flaschen bei Impfung von 0,0001 g Käse und die Hälfte bei Impfung von 0,000005 g. Die Zahlen schwanken hier zwischen 10000 und 200000 per Gramm. Wenn auch diese Zahlen auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch machen können, so zeigen sie doch, daß die Propionsäurebildner im Käse sehr zahlreich sind.

In Naturlabproben verschiedener Herkunft haben wir ihre Gegenwart in gleicher Weise nachweisen können. Impft man nämlich einige Tropfen Naturlab in Bouillon mit milchsaurem Kalk, so findet regelmäßig eine Propionsäuregärung statt; freilich ist dieselbe nicht immer ganz rein, sondern zuweilen von Buttersäure- und anderen Gärungen begleitet, deren Erreger stets auch im Lab vorkommen können.

In seinen Untersuchungen über die Bakterien der Labmägen konnte Thöni[1]) auch nachweisen, daß verschiedene Varietäten dieser Propion-

1) Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 181.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

säurefermente sich aus den Labmägen selber isolieren lassen; dieses erklärt dann auch, daß man sie stets im Naturlab findet.

Ferner konnten wir sie aus Milch isolieren, indem wir einige Tropfen in Bouillon mit milchsaurem Kalk einimpften und nach eingetretener Propionsäuregärung wie oben verfuhren. Endlich wurden sie auch im Schabzieger und Limburgerkäse gefunden.

## Morphologische und kulturelle Merkmale der Propionsäurebakterien.

### Bacterium acidi propionici a.

Dasselbe hat im allgemeinen die Form eines Kurzstäbchens, tritt aber häufig in der Form eines Coccus auf. Semmelformen sind ebenfalls häufig. In flüssigen Nährmedien betrachtet, kann es leicht mit einem B. lactis acidi verwechselt werden. Sein Durchmesser beträgt ungefähr $1/2\ \mu$. In älteren Kulturen findet man aber auch gestrecktere Formen.

Es färbt sich gut mit den üblichen Anilinfarben und nach Gram.

Wir konnten nur eine Molekularbewegung konstatieren.

Legt man Schottenagarschüttelkulturen an, so entwickeln sich die Kolonieen erst etwa 1 cm unter der Agaroberfläche. Wo wenig Kolonieen sind, nehmen sie eine scheibenförmige Gestalt an, sie sind gelbweißlich, anfänglich ganz klein, später jedoch ziemlich groß.

Im Schottenagarstich entwickelt sich die Kultur nur im Stiche, besonders im unteren Teile. Impft man von einer gut entwickelten Kultur ab, so daß die Platinöse ziemlich viel Material enthält, so wachsen die Bakterien zwar nicht auf der Oberfläche, aber im ganzen Impfstiche; impft man dagegen von einer flüssigen Kultur ab, so findet im ersten Teile des Stiches kein Wachstum statt. Anaërobe Bedingungen begünstigen somit das Wachstum; obligat anaërob ist dieser Mikroorganismus aber nicht, denn er wächst auch in Nährlösungen in gewöhnlichen Kulturkölbchen, ohne daß für Luftabschluß gesorgt wird. In den Schottenagarstichkulturen bleibt die umgebende Agarschicht ganz ungetrübt.

Im Gelatinestich ist das Wachstum ziemlich gut. Der Stich ist gelblich, gekörnt, zeigt aber nichts Auffälliges. Auf Gelatineplatten kommt nichts zum Vorschein.

In Bouillon mit milchsaurem Kalk entsteht Trübung, auch in Milchzuckerbouillon, aber nur eine schwache, in gewöhnlicher Peptonbouillon ist das Wachstum sehr schwach. In Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk läßt das Bakterium sich leicht weiterzüchten, besonders in Flaschen mit Patentverschluß; in gewöhnlicher Bouillon und in Milchzuckerbouillon versagen oft die Weiterimpfungen. In den flüssigen Nährmedien gezüchtet, zeigt es sich unter dem Mikroskope meistens zu Knäueln zusammengeballt.

In Milch wächst es, ohne sie makroskopisch zu verändern.

Bei 10° konnten wir kein Wachstum beobachten. Bei ca. 15° war das Wachstum in Schottenagar ganz gut; dagegen versagte eine Impfung in Bouillon mit milchsaurem Kalk. Zwischen 20 und 37° ist das Wachstum sehr gut, dagegen scheint es bei 42° aufzuhören. Bei diesen verschiedenen Temperaturen bleibt die Form des Bakteriums ziemlich die gleiche.

### Bacterium acidi propionici b.

Dieses Stäbchen haben wir auch Bakterium genannt, weil es bei 30°

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und darunter eine ausgesprochene Bakteriumform hat. Es sind kleine Stäbchen, ca. $^1/_2$ $\mu$ dick und ungefähr zweimal so lang, mit abgerundeten Enden, keine deutliche Bewegung zeigend und sich mit den Anilinfarben und nach Gram leicht färbend. Ganz anders ist aber das Bild, wenn die Kolonieen oder die Stichkultur bei 35—37° gewachsen sind. Untersucht man etwas Material von einer solchen Stichkultur im hängenden Tropfen, so sieht man deutliche Bacillen verschiedener Größe, gewöhnlich in Knäueln gruppiert, so daß man oft Verzweigungen zu sehen glaubt; oft ist das eine Ende verdickt, und das Bild hat Aehnlichkeit mit den Leguminosenbakteroiden. Färbt man das Präparat, so sieht man, außer mehr oder weniger regelmäßigen Bacillenformen, manche keulenartig verdickte Individuen und solche, die stellenweise ungefärbt sind und wie eine Reihe von Scheiben oder kurzen Gliedern (getrennt durch farblose Intervalle) aussehen; ist dabei das eine Ende keulenartig angeschwollen, so werden diese Glieder gegen das andere Ende hin immer kleiner. Da diese merkwürdigen Gebilde nur bei höheren Temperaturen auftreten, glauben wir, daß es mehr Involutionsformen sind. Die Größe dieser Bacillenform ist wechselnd, meist kaum 1 $\mu$ breit und 2-6 $\mu$ lang.

Bei unseren erwähnten Analysen hielten wir die Agarröhren bei 35—37°, daher glaubten wir anfänglich, es mit einem wirklichen Bacillus zu tun zu haben, erst das nähere Studium dieses Mikroorganismus bewog uns, es eher als ein Bakterium anzusehen.

In Schottenagarschüttelkulturen hat man eckige und scheibenförmige, weißlich-gelbe Kolonieen. Erstere schienen uns sich besonders bei höherer Temperatur zu entwickeln, während bei niederer Temperatur die Scheibenform häufiger ist. Das Wachstum der Kolonieen fängt gewöhnlich erst 1 cm unterhalb der Oberfläche an; dieser Mikroorganismus wird also durch Anaërobiose begünstigt, was man auch daraus sieht, daß, wenn mit der Platinöse aus einer flüssigen Kultur ein Agarstich angelegt wird, im oberen Teile des Stiches nichts wächst. Man erhält dann eine Stichkultur, die ganz das Aussehen einer Anaërobenkultur hat. Legt man jedoch aus einer Stichkultur eine neue Stichkultur mit einer Platinöse, die genügend Material enthält, an, so konstatiert man Wachstum im ganzen Impfstrich, und selbst die kleine Menge Kultur, die auf der Oberfläche geblieben ist, vergrößert und erweitert sich, so daß man auch ein Oberflächenwachstum hat, wenn auch kein sehr ausgebreitetes, sondern mehr stecknadelkopfartiges. Mit der Zeit trübt sich der Agar.

Im Gelatinestich hat man ziemlich gutes Wachstum; der Stich ist gelblich und gekörnt. Auf Gelatineplatten hatten wir kein Wachstum.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Gerinnung gebracht, aber erst nach mehreren Tagen.

In Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk hat man bereits nach 24 Stunden Trübung. Das Mikroskop zeigt hier meist kleinere, unregelmäßig zusammenliegende Bakterien. In Milchzuckerbouillon, sowie in gewöhnlicher Peptonbouillon tritt ebenfalls etwas Trübung ein, aber wie bei dem Bact. acidi propionici a versagen oft die späteren Ueberimpfungen.

Bei 10° beobachteten wir kein Wachstum, wohl aber von 15° an. Bei 30—37° geht das Wachstum am schnellsten vor sich. Bei 42° hörte es in den Agarstichkulturen auf.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Bacillus acidi propionici.

Diesen Mikroorganismus haben wir, wie bereits gesagt, nur einmal angetroffen. Es sind unbewegliche, etwas plumpe, gerade, auch krumme Bacillen, ca. $^3/_4$ $\mu$ breit und 2—6 $\mu$ lang, an den Enden gewöhnlich abgerundet, doch zuweilen auch zugespitzt oder verdickt, die sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram leicht färben lassen. Die Scheibenbildungen bei höherer Temperatur, die bei dem vorigen Propionsäurebildner beschrieben wurden, vermißt man hier.

In den Schottenagarschüttelkulturen bekommt man scheibenförmige, hie und da auch eckige, gelbweißliche Kolonieen.

Im Schottenagarstich ist das Wachstum sehr gut, auch auf der Oberfläche. Er ist weniger anaërob als die anderen, denn auch auf Gelatineplatten läßt er sich zum Wachsen bringen, in Form von kleinen, runden, gelblichen, gekörnten Kolonieen, die aber sehr klein bleiben. Das Wachstum im Gelatinestich hat nichts Charakteristisches.

Milch bringt dieser Bacillus bei 35° unter saurer Reaktion bereits nach 2 Tagen zur Gerinnung.

In Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk ist das Wachstum sehr gut, in gewöhnlicher Peptonbouillon und in Milchzuckerbouillon besser als bei den zwei Bakteriumarten. Die weiteren Ueberimpfungen gelingen in diesen beiden letzteren Nährmedien leicht. Das Wachstum ist auch bei diesem Bacillus am besten zwischen 20—37°, aber auch bei 42° haben wir in Schottenagar schwaches Wachstum erzielt. Bei dieser Temperatur waren aber im gefärbten Präparate auch ungefärbte Stellen zu beobachten.

Da diese verschiedenen Propionsäurebildner mit der Propionsäuregärung und, wie weiter unten gezeigt werden wird, mit der Lochbildung in engem Zusammenhange stehen, so machten wir einige Versuche, um festzustellen, bei welcher Temperatur sie abgetötet werden. Enge Kapillarröhren wurden mit einer flüssigen Kultur vollgesogen, zugeschmolzen, in einem Wasserbade bei verschiedenen Temperaturen $^1/_4$ und $^1/_2$ Stunde gehalten und der Inhalt dann in eine Flasche Peptonbouillon mit milchsaurem Kalk geimpft.

In einem ersten Versuche ließ man die Temperaturen von 50, 55, 60, 65, 70 und 75° $^1/_4$ Stunde lang einwirken. Alle 3 Propionsäurebildner überlebten die Temperatur von 50°, bei 55° wurden das Bact. acidi propionici a und der Bac. acidi propionici abgetötet, während das Bact. acidi propionici b am Leben blieb. Von 60° an wurden alle abgetötet.

Im zweiten Versuche wählten wir die Temperaturen von 53, 54, 55, 56, 57 und 58° und ließen sie $^1/_2$ Stunde lang einwirken. Schon bei 53° waren sie alle abgetötet.

Wir können uns freilich diese Resultate nicht leicht erklären, denn wir haben ja diese Bakterien aus Käse isoliert, die wie die Emmentalerkäse auf ca. 53—55° nachgewärmt wurden, und, wie der eine von uns[1]) gezeigt hat, werden sie sogar durch ein Nachwärmen auf 60° nicht beschädigt. Die Erklärung dieser Widersprüche wird wohl die sein, daß die in den Bruchkörnern eingeschlossenen Bakterien weniger von der Erhitzung leiden, als wenn sie in flüssiger Kultur in Kapillarröhren direkt in ein Wasserbad eingetaucht werden.

---

1) Orla Jensen, Ueber den Einfluß des Nachwärmens auf die Emmentalerkäse. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 154.)

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schon Fitz[1]) hat eine Propionsäuregärung des milchsauren Kalkes studiert und als Erreger derselben einen dünnen, länglichen Bacillus angegeben, der öfters in Kettenform auftreten soll. Aus diesen unvollständigen Angaben läßt sich aber nicht schließen, inwieweit er sich mit unseren Propionsäurebildnern identifizieren läßt. Höchstens könnte Fitz unseren Bacillus acidi propionici in Händen gehabt haben.

## Chemisch-biologisches Verhalten der Propionsäurebakterien.

Wie eingangs erwähnt, sind die vorliegenden Bakterien dadurch charakterisiert, daß sie milchsaure Salze unter Bildung von Propionsäure vergären können. Bei dieser Gärung werden nebst Propionsäure auch Essigsäure und Kohlensäure gebildet. Wasserstoff oder andere vom Wasser schwer absorbierbare Gase entstehen dagegen nicht, denn wenn man die Kulturkolben mit laugegefüllten Eudiometern verbindet, sammelt sich in den letzteren kein Gas an, sondern es wird nach einiger Zeit — wegen des Sauerstoffverbrauches der Propionsäurebakterien — Lauge in die Kolben hineingesogen.

Zur Gewinnung der flüchtigen Fettsäuren wurden die Kulturen mit Schwefelsäure versetzt, mit Wasserdampf abdestilliert und die Destillate mit Barytwasser unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator titriert. Wegen der vorhandenen Kohlensäure wurde das Destillat beim Titrieren milchig, sobald die stärkeren Säuren neutralisiert waren. Wie in früheren Arbeiten nennen wir den in Kubikcentimeter $\frac{n}{10}$-Lauge ausgedrückten Titer des von $BaCO_3$ gereinigten, von 100 ccm Kultur herrührenden Destillats die Destillationszahl (D.Z.) dieser Kultur.

Zur Identifizierung der Propionsäure diente das bekannte Verhalten des basischen propionsauren Bleies und die charakteristische oktaëderähnliche Kristallform des propionsauren Baryts[2]). Das letztere Salz kristallisiert, wenn — wie im vorliegenden Falle — keine höheren Fettsäuren vorhanden sind, außerordentlich leicht aus, ja die Kristalle können durch freiwilliges Verdampfen der Lösung sogar millimetergroß werden und sind somit schon makroskopisch erkennbar. Kommt dagegen gleichzeitig Buttersäure vor, so entstehen nur Nadelbüschel aus dem Barytsalz dieser Säure oder vielleicht auch aus Doppelsalzen von Buttersäure und Propionsäure; es ist auffällig, wie wenig Buttersäure genügt, um die Oktaëderbildung des propionsauren Baryts zu verhindern oder zu verdecken. Größere Beweiskraft als diesen Reaktionen kommt dem Silbergehalt der Silbersalze zu. Bezüglich unserer Kulturen stieg der Silbergehalt der verschiedenen Silbersalzfraktionen stets von ca. 59,4—64 Proz., und da das propionsaure Silber 59,67 Proz. Ag und das essigsaure Silber 64,67 Proz. Ag enthält, so sprechen diese Zahlen deutlich für Mischungen von Propionsäure und Essigsäure. Um das genaue Verhältnis dieser Säuren festzustellen, bedienten wir uns der von dem einen von uns ausgearbeiteten Fraktionierungsmethode[3]) und bestimmten

---

1) Fitz, A., Ueber Spaltpilzgärungen. (Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft. 1878. p. 42, u. 1891; 1879. p. 479; 1880. p. 1309.)

2) Behrens, H., Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen. 1897. Heft 4. p. 27.

3) Orla Jensen, Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß unter spezieller Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 161.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in den so gewonnenen Fraktionen die Duclauxschen Verhältniszahlen. Als Beispiel führen wir die Verhältniszahlen eines in 3 Fraktionen geteilten Destillates einer Kultur von Bact. acidi propionici a an:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I. Fraktion | 11,4 | 22,6 | 33,4 | 43,9 | 54,1 | 63,9 | 73,8 | 83,0 | 91,8 | Gefunden |
| In 100 ccm titriert | 11,3 | 22,5 | 33,3 | 43,8 | 54,2 | 64,0 | 73,6 | 82,8 | 91,6 | Berechnet |
| 37,20 ccm $\frac{n}{10}$ Ps : Es = 5 : 1 In 100 ccm 31 Ps + 6,2 Es In 110 ccm 32,63 Ps + 7,75 Es | | | | | | | | | | |
| II. Fraktion | 10,7 | 21,4 | 31,7 | 42,1 | 52,3 | 62,2 | 72,0 | 81,5 | 90,8 | Gefunden |
| In 100 ccm titriert | 10,7 | 21,5 | 31,9 | 42,1 | 52,3 | 62,1 | 71,8 | 81,2 | 90,5 | Berechnet |
| 43,05 ccm $\frac{n}{10}$ Ps : Es = 2,5 : 1 In 100 ccm 30,75 Ps + 12,3 Es In 110 ccm 32,37 Ps + 15,37 Es | | | | | | | | | | |
| III. Fraktion | 10,1 | 20,1 | 30,1 | 40,1 | 50,0 | 59,9 | 69,7 | 79,6 | 89,5 | Gefunden |
| In 100 ccm titriert | 10,1 | 20,3 | 30,3 | 40,3 | 50,1 | 59,9 | 69,7 | 79,5 | 89,4 | Berechnet |
| 58,90 ccm $\frac{n}{10}$ Ps : Es = 1,4 : 1 In 100 ccm 34,35 Ps + 24,55 Es In 110 ccm 36,16 Ps + 30,69 Es | | | | | | | | | | |
| Total: 101,16 Ps + 53,81 Es = 155 = D. | | | | | | | | | | |

Diese Analyse gibt also das Aequivalentverhältnis zwischen Propionsäure und Essigsäure Ps : Es = 101,2 : 53,8 = 1,9 oder genau 2, wenn wir Ps : Es = 103,6 : 51,8 setzen, eine Aenderung, die innerhalb der Fehlergrenze liegt. Es ist daher aller Grund vorhanden, anzunehmen, daß die Vergärung des milchsauren Kalkes nach der bereits von Fitz[1]) aufgestellten Gleichung stattfindet:

I. $3\, C_3H_6O_3 = 2\, C_3H_6O_2 + C_2H_4O_2 + CO_2 + H_2O$

3 Mol. Milchsäure = 2 Mol. Propionsäure + 1 Mol. Essigsäure + 1 Mol. Kohlensäure

Hierfür spricht auch die absolute Menge der flüchtigen Fettsäuren. Die verwendete Bouillon, in welcher sich nach der Vergärung keine Milchsäure mehr nachweisen ließ, enthielt nämlich ursprünglich (nach dem Kalkgehalt berechnet) 1,7 Proz. $Ca(C_3H_5O_3)_2$, worauf nach obiger Formel die Destillationszahl 156 — also fast genau die gefundene Zahl — folgen muß.

Was die Kohlensäure betrifft, so muß sie laut der Gärungsformel in freiem Zustande vorhanden sein; sie entweicht demgemäß zum größten Teile beim Oeffnen der Flasche und beim Umgießen der Kultur. Im Destillate findet man daher höchstens die Hälfte der gebildeten Menge wieder; so kam z. B. im vorliegenden Falle nur eine 43 ccm $\frac{n}{10}$-Lauge entsprechende Menge Kohlensäure vor.

In Peptonbouillon ohne milchsauren Kalk wachsen die Propionsäurebakterien, wie gesagt, nicht gut und bilden gar keine Säure. Eine Spur eines milchsauren Salzes genügt indessen, um ein reges Wachstum zu veranlassen, und es ist hervorzuheben, daß das Pepton stärker angegriffen wird im Verein mit sehr wenig als im Verein mit viel milchsaurem Salz; so wurden z. B. von den Propionsäurebakterien in der Peptonbouillon mit ca. 2 Proz. milchsaurem Kalk höchstens 6 Proz. des Gesamtstickstoffes in Monoaminosäurestickstoff (Z. N.) umgewandelt, während sie in Peptonbouillon mit nur einer Spur milchsaurem Kalk die doppelte Menge Pepton abbauen konnten. Dieses bestätigt die in einer früheren Arbeit[2]) besprochene schützende Wirkung der milchsauren

1) l. c.
2) Orla Jensen l. c.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Salze gegenüber den Proteinstoffen. Bei der von den Propionsäurebakterien hervorgerufenen Peptonzersetzung entsteht Schwefelwasserstoff, was nicht nur mittels Bleipapiers, sondern auch nach dem Geruch deutlich zu erkennen ist.

Die Propionsäurebakterien greifen bernsteinsauren Kalk nicht und Glycerin nur sehr schwach an. Die erwähnten Eigentümlichkeiten dieser Bakterien sind aus der Tabelle I ersichtlich. Die Kulturen waren 2 Monate bei 30° gehalten worden.

Tabelle I.

| Eingeimpfte Bakterie | Peptonbouillon | Erhöhung des Säuregrades | D. Z. | Ps | Es | Ps : Es | Gebildeter Z. N. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bact. acidi propionici a | Mit milchsaurem Kalk | 39 | 158 | 105 | 53 | 2 | 5,37 |
| " " " " | Mit bernsteinsaur. Kalk | 0 | 0 | | | | 1,15 |
| " " " " | Mit Glycerin | 5 | 5 | | | | 0,90 |
| " " " " | Ohne Zusatz | 0 | 0 | | | | 2,20 |
| Bact. acidi propionici b 1 | Mit milchsaurem Kalk | 37 | 144 | 93 | 51 | 1,8 | 4,26 |
| Bact. acidi propionici b 2[1]) | Mit milchsaurem Kalk | 6 | 48 | 30 | 18 | 1,7 | 5,60 |
| " " " " " | Mit bernsteinsaur. Kalk | 0 | 0 | | | | 1,23 |
| " " " " " | Mit Glycerin | 5 | 5 | | | | 1,16 |
| " " " " " | Ohne Zusatz | 0 | 0 | | | | 1,82 |
| Bacillus acidi propionici | Mit milchsaurem Kalk | 20 | 154 | 95 | 59 | 1,6 | 4,85 |

In Analogie mit der Destillationszahl ist die Erhöhung des Säuregrades im Kubikcentimeter $\frac{n}{10}$-Lauge pro 100 ccm Kultur ausgedrückt. Diese Erhöhung rührt, was die mit milchsaurem Kalk versetzte Peptonbouillon betrifft, fast lediglich von der gebildeten Kohlensäure her und verschwindet deshalb beim Erwärmen und Schütteln der Kultur.

Aus der vorstehenden Tabelle geht hervor, daß die Propionsäuregärung nur mit Bacterium a ganz rein verläuft, mit Bacterium b und besonders mit dem Bacillus scheint ein kleiner Teil des milchsauren Kalkes nach der Gleichung:

$$\text{II.}\quad 2\, C_3H_6O_3 = 3\, C_2H_4O_2$$

2 Mol. Milchsäure = 3 Mol. Essigsäure

gespalten zu werden.

Sämtliche Propionsäurebakterien vergären Milchzucker unter Bildung von flüchtigen Säuren; Bact. acidi propionici a jedoch nur in so geringem Maße, daß die Milch dadurch nicht zur Gerinnung gebracht wird. Am meisten wird der Säuregrad der Milch von Bacillus acidi propionici erhöht (siehe Tabelle III). Es sind somit bei den Propionsäurebakterien wie bei den Milchsäurefermenten die Langstäbchen, die den Milchzucker am stärksten angreifen.

Der Milchzucker scheint von den Propionsäurebakterien in ähnlicher Weise zerlegt zu werden wie der milchsaure Kalk, nur entsteht in den meisten Fällen verhältnismäßig mehr Essigsäure. Bacillus acidi

1) Das Bact. acidi propionici b, Stamm 2, bildete gleich nach der Auffindung ebenso viel flüchtige Säuren wie die anderen Propionsäurebakterien. Das geringe Gärvermögen, welches es bei diesem Parallelversuch und auch in späteren Versuchen aufwies, muß daher einer Abschwächung der Kultur zuzuschreiben sein.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

propionici scheint jedoch aus Milchzucker für je 1 Molekül Essigsäure 3 Moleküle Propionsäure zu bilden. Bei dieser Gärung scheinen auch keine anderen Gase als $CO_2$ zu entstehen.

Da die vergorene Milchzuckermenge der gebildeten Menge flüchtiger Säuren entspricht (wenn wir die obigen Gärungsgleichungen den Berechnungen zu Grunde legen) und da die Erhöhung des Säuregrades in der Milch ohne Kreide mit der Destillationszahl ziemlich nahe übereinstimmt, so müssen wir annehmen, daß die Propionsäurebakterien aus Milchzucker keine nicht flüchtigen Säuren bilden.

Wenn man Milch, die mit Kreide versetzt worden ist, gleichzeitig mit Milchsäure- und Propionsäurebakterien impft, so bilden die letzteren die von den ersteren erzeugte Milchsäure nach und nach vollkommen in flüchtige Säuren um, und dies unabhängig davon, ob die betreffenden Milchsäurebakterien Rechtsmilchsäure (wie z. B. Bact. lactis acidi) oder inaktive Milchsäure (wie z. B. Bacillus casei ε) bilden. Die Propionsäurebakterien vergären also Rechtsmilchsäurebakterien ebenso leicht wie Linksmilchsäure. Die Tabellen II und III illustrieren das Verhalten dieser Bakterien bei 30° in Milch mit bezw. ohne Kreide. Die Kulturen waren zur Zeit der Untersuchung 2—3 Monate alt. Wie gewöhnlich bei den Milchkulturen, bezeichnen wir den durch Kochen mit Essigsäure nicht fällbaren Stickstoff mit L.N. (löslichen Stickstoff) und den mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoff mit Z.N. (Zersetzungsstickstoff) und drücken beide in Prozenten des Gesamtstickstoffes aus. Durch Abzug der entsprechenden ursprünglichen Stickstoffmengen der Milch enthält man die gebildeten Mengen.

Tabelle II.

| Milch mit Kreide | D.Z. | Ps | Es | Ps : Es | Gebildete Mengen | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | L.N. | Z.N. |
| Bact. acidi propionici a | 12 | 7 | 5 | 1,4 | 0,61 | 2,97 |
| „ „ „ „ + Bact. lactis acidi | 212 | 116 | 96 | 1,2 | 3,06 | 3,12 |
| „ „ „ „ + Bacillus casei ε | 557 | 320 | 237 | 1,4 | 24,75 | 25,98 |
| Bact. acidi propionici b 1 + Bact. lactis acidi | 255 | 155 | 100 | 1,5 | 0,60 | 0,60 |
| „ „ „ „ „ + Bacillus casei ε | 558 | 350 | 208 | 1,7 | 25,03 | 24,56 |
| Bact. acidi propionici b 2 | 152 | 80 | 72 | 1,1 | 0,77 | 1,20 |
| „ „ „ „ „ + Bact. lactis acidi | 283 | 163 | 120 | 1,4 | 0,66 | 0,71 |
| „ „ „ „ „ + Bacillus casei ε | 540 | 320 | 220 | 1,5 | 25,03 | 24,94 |
| Bact. acidi propionici b 3 | 228 | 132 | 96 | 1,4 | 0,00 | 0,00 |
| „ „ „ „ „ + Bact. lactis acidi | 283 | 178 | 105 | 1,7 | 6,28 | 3,23 |
| Bact. acidi propionici b 4 | 193 | 125 | 68 | 1,9 | 2,77 | 3,60 |
| „ „ „ „ „ + Bact. lactis acidi | 210 | 134 | 76 | 1,8 | 1,72 | 2,26 |
| „ „ „ „ „ + Bacillus casei ε | 430 | 270 | 160 | 1,7 | 25,84 | 25,61 |
| Bact. acidi propionici b 5 + Bact. lactis acidi | 232 | 148 | 84 | 1,8 | 0,62 | 1,77 |
| „ „ „ „ „ + Bacillus casei ε | 24 | 4 | 20 | 0,2 | 19,60 | 18,49 |
| Bacillus acidi propionici | 232 | 176 | 56 | 3,1 | 5,51 | 4,76 |
| „ „ „ + Bact. lactis acidi | 259 | 200 | 59 | 3,4 | 3,54 | 2,18 |
| „ „ „ + Bacillus casei ε | 17 | 1 | 16 | 0,1 | 25,75 | 26,11 |

(Siehe Tabelle III p. 541.)

Da Bacillus casei ε den Milchzucker der mit Kreide versetzten Milch vollständig in milchsauren Kalk überführen kann, so bekommt man in Mischkulturen von diesem Bacillus mit den Propionsäurebakterien sehr viel flüchtige Säuren. Durch Vergärung der ganzen Milchzuckermenge

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle III.

| Milch ohne Kreide | Erhöhung des Säuregrades | D.Z. | Ps | Es | Ps : Es |
|---|---|---|---|---|---|
| Bacterium acidi propionici a | 18 | 11 | 7 | 4 | 1,8 |
| „ „ „ b 1 | 63 | 61 | 34 | 27 | 1,2 |
| „ „ „ „ 2 | 53 | 48 | 27 | 21 | 1,3 |
| „ „ „ „ 3 | 68 | 67 | 42 | 25 | 1,7 |
| Bacillus acidi propionici | 83 | 83 | 60 | 23 | 2,6 |

der für die Versuche dienenden Milch (4,99 Proz.) erhält man nach der Gleichung I eine Destillationszahl von 554 und nach der Gleichung II eine Destillationszahl von 631. Nach letzterer Gleichung oder nach der analogen Formel (1 Mol. Milchzucker = 6 Mol. Essigsäure) bilden die meisten Milchsäurebakterien Essigsäure. Wie die Tabelle II zeigt, haben Bacterium acidi propionici a und Bact. acidi propionici b, Stamm 1 und 2, im Verein mit Bacillus casei ε Destillationszahlen geliefert, die der nach der Gleichung I höchstmöglichen Zahl sehr nahe kommen. Bact. acidi propionici b, Stamm 5, und Bacillus acidi propionici haben sich dagegen neben Bacillus casei ε gar nicht entwickeln können.

Die Tabelle II zeigt ferner, daß die Propionsäurebakterien in keinem nennenswerten Grade das Kasein anzugreifen vermögen. Eine Spur Eiweißzersetzungsprodukte müssen sie natürlicherweise bilden, weil die Propionsäuregärung nicht ganz ohne Stickstoffumsatz stattfinden kann. Die große Menge Aminosäuren, welche in den Mischkulturen mit Bacillus casei ε entsteht, rührt von diesem letzteren Bacillus her. Schwefelwasserstoff ließ sich in den Milchkulturen nicht nachweisen.

Aus der Tabelle IV geht hervor, daß die Propionsäurebakterien im Verein mit dem in frischer Käsemasse stets vorkommenden peptonisierenden Coccus, Micrococcus casei liquefaciens, größere Mengen Eiweißzersetzungsprodukte bilden können. Dieses Verhalten erinnert an Bacillus casei limburgensis, einen in der Schmiere des Limburgerkäses massenhaft vorhandenen Bacillus, der auch nur im Verein mit dem erwähnten Coccus eine tiefere Zersetzung des Kaseins zu stande bringt[1]).

Tabelle IV.

| Milch | Micrococcus casei liquefaciens | D.Z. | Ps | Es | Gebildete Mengen L.N. | Gebildete Mengen Z.N. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ohne Kreide | Allein | 29 | 1 | 28 | 51,01 | 6,06 |
| „ „ | + Bacterium acidi propionici b | 131 | 47 | 84 | 51,03 | 9,44 |
| Mit Kreide | Allein | 119 | 6 | 113 | 65,15 | 16,16 |
| „ „ | + Bacterium acidi propionici b | 298 | 183 | 115 | 70,36 | 32,98 |
| Ohne Kreide | + Bacillus casei limburgensis | 22 | 3 | 19 | 78,28 | 31,88 |

Durch Verwendung von Propionsäurebakterien bei der Herstellung von Emmentalerkäsen wurde meistens der für diese Käsesorte charakteristische süßliche Geschmack, der nach aller Wahrscheinlichkeit von Monoaminosäuren herrührt, gesteigert. Da die Analyse dieser Versuchs-

1) Orla Jensen, l. c. p. 703.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

käse indessen keinen Aufschluß darüber gab, inwieweit die Propionsäurebakterien wirklich zu der Eiweißzersetzung beigetragen hatten, so bleibt die Bedeutung dieser Bakterien für die eigentliche Käsereifung noch eine offene Frage. Daß den Propionsäurebakterien die Hauptrolle bei der im Emmentalerkäse vor sich gehenden Lochbildung zukommt, scheint uns dagegen außer allem Zweifel, und da gerade diese Tatsache den Propionsäurebakterien großes Interesse verleiht, so wollen wir zum Schlusse auf diesen Punkt näher eintreten.

## Die normale Lochbildung im Emmentalerkäse.

Wie der eine von uns in der öfters zitierten Arbeit gezeigt hat, findet die Propionsäuregärung im Emmentalerkäse hauptsächlich zur Zeit der Lochbildung statt, und da wir nun nachgewiesen haben, daß bei dieser Gärung Kohlensäure entwickelt wird, so liegt der Gedanke nahe, daß die normalen Löcher im Emmentalerkäse gerade dieser Kohlensäure ihre Entstehung zu verdanken haben.

Um die Richtigkeit dieser Hypothese zu beweisen, wurden zwei Wege eingeschlagen. Erstens haben wir bei angekauften Marktkäsen das Verhältnis zwischen der Menge der flüchtigen Säuren und der Größe und Menge der Löcher festgestellt, und zweitens haben wir in der hiesigen Versuchskäserei Emmentalerkäse mit und ohne Zusatz von Propionsäurebakterien bereiten lassen und in diesen Käsen die Lochbildung verfolgt und die flüchtigen Säuren bestimmt.

Die folgende Tabelle enthält die Ergebnisse der ersten Methode. Die Menge der Capron- und Buttersäure, die im Emmentalerkäse — wegen der geringen Fettspaltung — ganz verschwindend ist, haben wir mit der Propionsäure zusammengerechnet.

Tabelle V.

| Emmentalerkäse | D. Z. | Ps | Es | Ps : Es |
|---|---|---|---|---|
| Mit kleinen Löchern und Salzsteinen | 36 | 18 | 18 | 1,0 |
| Fast ohne Löcher | 40 | 20 | 20 | 1,0 |
| Gläsler ohne Löcher | 46 | 33 | 13 | 2,7 |
| Mit kleinen Löchern | 52 | 26 | 26 | 1,0 |
| Gläsler mit wenigen Löchern | 61 | 23 | 38 | 0,6 |
| Normal | 66 | 29 | 37 | 0,8 |
| " | 72 | 33 | 39 | 0,9 |
| " | 72 | 35 | 37 | 0,9 |
| " | 82 | 60 | 22 | 2,7 |
| " | 88 | 60 | 28 | 2,2 |
| " | 101 | 59 | 42 | 1,4 |
| " | 112 | 51 | 61 | 0,8 |
| Mit zu vielen, aber schönen Löchern | 94 | 52 | 42 | 1,2 |
| Viel zu stark gelocht | 83 | 37 | 46 | 0,8 |
| Desgl. | 94 | 42 | 52 | 0,8 |
| Desgl. | 107 | 56 | 51 | 1,1 |

Wie man sieht, steigt die Menge der flüchtigen Säuren meistens mit zunehmender Lochbildung. Eine vollständige Gesetzmäßigkeit ist jedoch nicht vorhanden, was auch nicht zu erwarten war, denn teils bilden nicht nur die Propionsäurebakterien, sondern auch die verschiedenen Milchsäurebakterien flüchtige Säuren (die letzteren hauptsächlich Essigsäure), teils kann bei der gleichen Intensität der Propionsäuregärung die Lochbildung durch rein mechanische Verhältnisse begünstigt oder ge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hemmt werden[1]), und endlich rührt bei dem zu stark gelochten Käse ein Teil der Lochung öfters von Blähungen her, die auf Kosten des Milchzuckers von Coli-, Aërogenes- oder Buttersäurebakterien[2]) verursacht werden.

Bevor wir zu den eigentlichen praktischen Lochbildungsversuchen übergingen, bereiteten wir zuerst eine Anzahl kleiner (1 kg schwerer) Laboratoriumskäse, um uns zu überzeugen, ob die Propionsäurebakterien nun auch wirklich im Käse, ebenso gut wie in Milch oder in mit milchsaurem Kalk versetzter Peptonbouillon, Propionsäure bilden können. 1 ‰ der in letzterer Nährflüssigkeit gut entwickelten Kulturen diente bei diesen sowohl als bei den späteren Versuchen als Impfmaterial für die zu verkäsende Milch. Es wurden 5 Tage nacheinander 2 Käse aus der gleichen, bei 68—69° pasteurisierten Milch nach Emmentaler Art bereitet, der eine mit, der andere ohne Propionsäurebakterien. Vor dem Labzusatz wurde die Milch stets mit Milchsäurebakterien (Bact. lactis acidi, Bac. casei ε und in einigen Fällen auch mit Micrococcus casei liquefaciens) geimpft. Als Lab wurden, mit einer Ausnahme, Hansensche Labtabletten verwendet, weil das Naturlab meistens Propionsäurebakterien enthält. Da so kleine Käse keine normale Reifung durchmachen und keine normalen Löcher erhalten, haben wir in der folgenden Tabelle nur die Resultate der chemischen Untersuchungen angeführt. Dieselben fanden nach 3 Monaten statt. Mit L.N. eines Käses wird der wasserlösliche Stickstoff, in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt, verstanden.

Tabelle VI.

| Käse No. | Nebst Bacterium lactis acidi und Bacillus casei ε wurde eingeimpft: | D. Z. | Ps | Es | L. N. | Z. N. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Nichts | 7 | 2 | 5 | 18,16 | 3,96 |
| 2 | Bacterium acidi propionici b | 91 | 65 | 26 | 17,66 | 4,29 |
| 3 | Nichts | 100 | 76 | 24 | 14,85 | 5,17 |
| 4 | Bacterium acidi propionici a | 134 | 87 | 47 | 12,93 | 3,86 |
| 5 | Micrococcus casei liquefaciens | 28 | 17 | 11 | 22,71 | 3,69 |
| 6 | Micrococcus casei liquefaciens + Bacterium acidi propionici a | 114 | 88 | 26 | 24,86 | 5,29 |
| 7 | Micrococcus casei liquefaciens | 19 | 14 | 5 | 16,78 | 4,67 |
| 8 | Micrococcus casei liquefaciens + Bacterium acidi propionici b | 134 | 104 | 30 | 17,76 | 4,78 |
| 9 | Nur Naturlab | 30 | 9 | 21 | 27,58 | 5,52 |
| 10 | Bacterium acidi propionici a | 137 | 98 | 39 | 25,58 | 5,80 |

Diese Tabelle zeigt deutlich, daß die Propionsäurebakterien im Käse Propionsäure bilden können, indem die Versuchskäse 5—32mal mehr Propionsäure als die entsprechenden Kontrollkäse enthielten. Zwar waren die letzteren nicht ganz propionsäurefrei, es ließen sich aber auch in allen Kontrollkäsen mit Ausnahme von No. 1 Propionsäurebakterien nachwiesen, die wahrscheinlich von den Käsetüchern, welche von einem Mal zum andern nicht sterilisiert wurden, in die Käsemasse hineingelangt waren. Am zweiten Versuchstage wurde durch Unachtsamkeit des assistierenden Abwarts für den Kontrollkäse ein Instrument gebraucht, das vorher mit der Milch des Versuchskäses in Berührung stand, wo-

1) Siehe z. B. über die Gläslerbildung Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 152.
2) Thöni, Landwirtsch. Jahrbuch der Schweiz. 1906. p. 157.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch ersterer Käse (No. 3) selbstverständlich mit Propionsäurebakterien stark infiziert worden ist. Durch den Zusatz von Micrococcus casei liquefaciens wurde in zwei Käsen (No. 7 und 8) eine geringe Menge Valeriansäure gebildet. Eine Erhöhung der Menge des Z.N., wie in den Milchkulturen von diesem Coccus im Verein mit Propionsäurebakterien, fand in deutlicher Weise nur bei Käse 6 statt.

Von den in der Versuchskäserei mit und ohne Propionsäurebakterien hergestellten Käsen fielen die zuerst in den Wintermonaten Februar, März und April des Jahres 1905 bereiteten am besten aus. Von 17 Kontrollkäsen war nämlich nur ein einziger, also 6 Proz., genügend gelocht (alle die anderen hatten nur erbsengroße Löcher), während von den 12 mit Propionsäurebakterien geimpften Käsen 10, also 83 Proz., normal gelocht waren. Bei der Fortsetzung der Versuche mit größeren Käsen im Laufe des folgenden Sommers wurden die nicht geimpften Käse auch meistens genügend gelocht, so daß der Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchskäse nicht mehr so deutlich zum Vorschein kam. Es ist indessen hervorzuheben, daß, wenn ein Kontrollkäse große Löcher besaß, sich auch immer reichliche Mengen Propionsäure und Propionsäurebakterien darin nachweisen ließen. Die letzteren Bakterien sind nämlich, wie im vorhergehenden erwähnt, ungemein verbreitet und gelangen daher, besonders wenn die betreffende Käserei einmal mit denselben durch und durch infiziert worden ist, meistens ohne besondere Vorkehrungen in hinreichender Menge in die Käse, und dies um so leichter, weil es für die normale Lochbildung gar nicht notwendig ist, daß die Käse von Anfang an eine große Menge Propionsäurebakterien beherbergen. Es bleibt diesen Bakterien reichliche Zeit für ihre Entwickelung, denn sie sollen nicht wie die Milchsäurebakterien sofort durch die ganze Masse ihre Tätigkeit entfalten, sondern erst nach mehreren Wochen stellenweise ein wenig Gas erzeugen.

Von den Versuchskäsen wurde nur eine kleine Anzahl chemisch untersucht. In der Tabelle VII haben wir die erhaltenen Resultate zusammengestellt. Die Käse waren zur Zeit der Untersuchung 4—5 Monate alt.

Tabelle VII.

| Datum der Fabrikation | Eingeimpfte Bakterien | D. Z. | Ps | Es | L. N. | Z. N. | Lochung | Geschmack |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 29. III. 05 | Bac. casei ε | 28 | 9 | 19 | 26,56 | 11,37 | Zu spärlich | Normal |
| 31. III. 05 | „ „ „ + Bact. acidi propionici a | 71 | 36 | 35 | 25,87 | 10,30 | Normal | „ |
| 5. IV. 05 | „ „ „ + Bact. acidi propionici a | 72 | 35 | 37 | 29,01 | 10,80 | „ | „ |
| 1. VI. 05 | Bact. lactis acidi + Bact. acidi propionici b | 58 | 30 | 28 | 29,71 | 5,78 | Zu spärlich | Fade |
| 4. VI. 05 | Bac. casei δ + Bact. acidi propionici b | 69 | 37 | 32 | 27,83 | 7,03 | Etwas größere Löcher als beim vorhergehend. Käse | Schwach |
| 20. VI. 05 | Naturlab | 91 | 52 | 39 | 34,21 | 13,69 | Normal | Nicht ganz rein |
| 21. VI. 05 | Bac. casei α + Bact. acidi propionici b | 75 | 43 | 32 | 27,39 | 5,95 | Gläsler ohne Loch | Schwach |
| 25. VI. 05 | Bac. casei ε + Bac. acidi propionici | 67 | 29 | 38 | 29,64 | 9,94 | Gläsler mit Loch | Normal |
| 29. VI. 05 | „ „ „ + Bact. acidi propionici a | 130 | 82 | 48 | 30,11 | 11,16 | Normal | „ |
| 30. VI. 05 | „ „ „ + Bact. acidi propionici b | 72 | 39 | 33 | 35,34 | 12,48 | Genug, aber zu kleine Löcher | „ |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die 3 ersten in dieser Tabelle aufgeführten Käse gehören zu der ersten, besonders gelungenen Versuchsreihe mit 30 kg schweren Winterkäsen. Die übrigen Angaben der Tabelle beziehen sich auf 50—60 kg schwere Sommerkäse. Von diesen war der mit Bacterium acidi propionici a geimpfte (am 29. Juni fabrizierte) Käse bezüglich Lochung und Geschmack unbedingt der beste, wie er auch weitaus am meisten Propionsäure enthielt. Diesem Käse am nächsten kam der Naturlabkäse. Bact. acidi propionici b und Bac. acidi propionici scheinen in den großen Käsen die Lochbildung weniger zu beeinflussen, was vielleicht dem Umstand zuzuschreiben ist, daß diese Bakterien öfters Mühe haben, neben Bac. casei ε aufzukommen, so wie wir es mit den Mischkulturen gesehen haben. Es ist auch anzunehmen, daß Bact. acidi propionici a sich am besten für die normale Lochbildung eignet, indem es den Milchzucker fast nicht anzugreifen vermag und somit keine Blähungen hervorrufen kann, sondern erst mit der Kohlensäureentwickelung im Heizlokale einsetzt, wenn die Käsemasse durch den Reifungsvorgang genügend plastisch geworden ist.

Da die Eiweißzersetzungsprodukte im Emmentalerkäse, wie frühere Arbeiten zeigen, hauptsächlich von Bac. casei ε gebildet werden, enthalten auch in der vorstehenden Tabelle die mit diesem Bacillus geimpften Käse am meisten Z.N.

Während wir für die vorhergehenden mit Propionsäurebakterien geimpften Käse stets Kunstlab verwendet hatten, so wurden die in der Tabelle VIII angeführten Käse mit Naturlab bereitet. Da das letztere meistens eine für die normale Lochbildung genügende Menge Propionsäurebakterien enthält, so war zu erwarten, daß man durch weiteren Zusatz von Bact. acidi propionici a eine übertriebene Lochbildung bekommen müßte. Dies bestätigte sich auch vollauf für alle drei bei verschiedener Temperatur (48, 56 und 60°) nachgewärmten Käse. Was den Einfluß des Nachwärmens auf die Emmentalerkäse betrifft, verweisen wir auf die diesbezügliche Arbeit[1]).

Tabelle VIII.

| Datum der Fabrikation | Nachgewärmt auf | Eingeimpfte Bakterien | D. Z. | Ps | Es | L. N. | Z. N. | Lochung | Geschmack |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 25. IX. 05 | 48° | Keine | 59 | 16 | 43 | 33,49 | 9,78 | Nißler getrieben | Säuerlich-bitter |
| 16. IX. 05 | 48° | Bact. acidi propionici a | 125 | 71 | 54 | 29,84 | 10,33 | Nißler getrieben | Zu süß |
| 19. IX. 05 | 56° | Keine | 84 | 42 | 42 | 27,92 | 11,40 | Normal | Normal |
| 7. IX. 05 | 56° | Bact. acidi propionici a | 128 | 81 | 47 | 25,94 | 8,01 | Zu groß gelocht u. desh. etwas getrieb. | „ |
| 21. IX. 05 | 60° | Keine | 74 | 39 | 35 | 27,18 | 10,29 | Normal | „ |
| 17. IX. 05 | 60° | Bact. acidi propionici a | 121 | 76 | 45 | 27,54 | 8,49 | Zu groß gelocht | „ |

Diese Versuche zeigen, daß man auch in bei 60° nachgewärmten Käsen mittelst Bact. acidi propionici a sehr große Löcher erreichen kann, und daß ein zu starker Zusatz dieser Bakterien zu der zu verkäsenden Milch nicht ohne Gefahr ist. Nur in Käsereien, in welchen

1) Orla Jensen, Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 1906. p. 154.



Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

man Mühe hat, eine genügende Lochung hervorzurufen, ist das Impfen der Kesselmilch mit Propionsäurebakterien zu empfehlen; es ist dann aber auch zu erwarten, daß man in solchen Fällen guten Erfolg haben wird.

Die wichtigsten Resultate dieser Arbeit sind folgende:

1) Die Hauptmenge der Propionsäure im Emmentalerkäse wird auf Kosten der durch die Milchsäuregärung entstandenen milchsauren Salze von spezifischen Propionsäurebakterien gebildet.

2) Dieser Prozeß findet nach folgender Gleichung statt:

$$3\ C_3H_6O_3 = 2\ C_3H_6O_2 + C_2H_4O_2 + CO_2 + H_2O$$

3 Mol. Milchsäure = 2 Mol. Propionsäure + 1 Mol. Essigsäure + 1 Mol. Kohlensäure.

3) Die bei dieser Gärung freigewordene $CO_2$ ist die Hauptursache der normalen Lochbildung im Emmentalerkäse.

4) Neben der Propion-Essigsäuregärung findet im Käse auch meistens eine reine Essigsäuregärung des milchsauren Kalkes statt, und diese Gärung wird sowohl von den Propionsäurebakterien als auch von den Milchsäurebakterien hervorgerufen.

Zuletzt möchten wir noch daran erinnern, daß auch andere Käsebakterien kleine Mengen Propionsäure aus verschiedenen Quellen bilden können und daß bei gewissen im Käse stattfindenden tiefergehenden Zersetzungen des Eiweißmoleküls Kohlensäure frei wird; es darf deshalb aus vorliegender Arbeit nicht geschlossen werden, daß im Emmentalerkäse ohne die beschriebenen Propionsäurebakterien gar keine Propionsäure- oder Lochbildung stattfinden kann.

---

## Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

*Nachdruck verboten.*

### Société chimique de Belgique.

# Ueber die diastatische Katalyse von Wasserstoffsuperoxyd.

Resumé einer Mitteilung von Prof. **H. van Laer,** Sitzung vom 22. November 1905.

1) In Uebereinstimmung mit den von mehreren Verff. entwickelten Ansichten haben wir Grund, die indirekte diastatische Zersetzung von $H_2O_2$ bei Gegenwart von leicht oxydierbaren Reagentien (wie Guayac und Tetramethyl p. Phenylendiaminchlorhydrat) und die direkte diastatische Katalyse von Peroxyd durch eine große Anzahl lebender oder toter Pflanzenstoffe (Kartoffelsaft, Malz, Hopfenkörner und -Triebe, Hefearten, Dauerhefe) als zwei voneinander verschiedene Erscheinungen zu betrachten.

Wenn die direkte diastatische Katalyse von $H_2O_2$ eine spezifische Eigenschaft einer genau bestimmten Diastase ist (Loewsche Katalase), so hat man Grund, die Peroxydasen von den Katalasen zu unterscheiden.

2) Die benutzten Materialien (Malzarten, Hopfenarten, Hefen, Kartoffelsaft) sind hinsichtlich ihrer „katalytischen Kraft“ sehr verschieden.

Es ist interessant, sich daran zu erinnern, daß bei den von derselben Gerste herrührenden Malzarten die katalytische Kraft mit der Temperatur der Malzdarre abnimmt, und daß eine 1901 hergestellte

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Dauerhefe 1905 noch sehr aktiv war, obschon sie keine Gärkraft mehr besaß.

3) Gedarrtes Malz, Hopfenkörner, lebende und tote Hefearten scheinen nur einen unlöslichen Katalysator zu enthalten ($\alpha$ Loewsche Katalase), in Kartoffelsaft und einigen Gerstenarten ist eine gewisse Menge eines löslichen Katalysators vorhanden ($\beta$ Loewsche Katalase), welche durch Filtrieren teilweise aufgehalten wird.

4) Die durch die Temperatur auf die diastatischen im feuchten Zustande benutzten Katalysatoren ausgeübte abschwächende Wirkung schwankt je nach der Natur derselben. Einige, z. B. Malz, werden schon bei 30° C fast vollständig zerstört; andere, z. B. Dauerhefe, werden erst bei einer Temperatur von 40—50° abgeschwächt.

Mittels der Temperaturwirkung kann man auch, wie schon Neumann Wender gezeigt hat, die „Peroxydasen" von den „Katalasen" unterscheiden.

Malz und Dauerhefe, in trockenem Zustande während mehrerer Stunden einer Temperatur von 105° C ausgesetzt, bewahren noch einen Teil ihrer katalytischen Kraft.

5) Es ist ein anfänglicher Reichtum an $H_2O_2$ vorhanden, welcher einem Maximum an Zersetzungsschnelligkeit entspricht, obgleich der Katalysator bei dieser stärksten Konzentration rascher zerstört wird als bei schwächeren Konzentrationen. In den an $H_2O_2$ sehr reichen Flüssigkeiten beginnt das Phänomen mit einer Art Explosion, worauf die Wirkung zunächst aussetzt. Bei schwächeren Flüssigkeiten wächst die Schnelligkeit gleichzeitig mit der Konzentration.

6) Die Katalysen, die mit Wasserstoffsuperoxyd in geringerer Konzentration angestellt sind, weisen eine Reaktionsgeschwindigkeit auf, welche infolge der Abschwächung des Katalysators und des fortschreitenden Fallens der Konzentration abnimmt.

Die Werte von $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ stellen ein Maximum in der Umgebung dar, in welcher das Phänomen einen Augenblick dem logarithmischen Gesetz der unimolekularen Reaktionen folgt.

7) Man kann rechnerisch an Stelle der veränderlichen Größen des im Verlauf einer Zersetzung wirkenden Katalysators eine „mittlere Katalysatorgröße" setzen, nämlich eine Größe eines aktiven Agens, welche sich selbst während der Dauer des Experiments gleich bleibt und dieselbe Zersetzungsarbeit verrichtet wie die im Verlauf der Katalyse geleistete. — Dieser Ersatz einer veränderlichen „Katalysengröße" durch eine konstante Größe zeigt, daß die diastatische Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds dem Gesetze der Masse folgt.

## Referate.

**Zikes,** Ueber geotaktische Bewegungen des Bacterium Zopfii. Wien (Hölder) 1906.

In der vorliegenden Abhandlung teilt Verf. die Ergebnisse der Fortsetzung von Versuchen über die Geotaxis von Bacterium Zopfii mit, über die erstmalig bereits im Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. XI. p. 59 berichtet ist.

Es wurde in der ersten Abhandlung die Tatsache konstatiert, daß



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in senkrechten Strichkulturen die seitlich vom Striche ausstrahlenden Bakterienketten sich stets in einem Winkel von ca. 45° nach aufwärts richten, was auf Geotaxis zurückzuführen ist, da sich durch Anordnung der Kulturen auf einem rotierenden Rade jede Orientierung im Wachstum aufheben läßt.

Beijerinck hat demgegenüber behauptet, daß die eigentümliche Orientierung der Bakterien in Strichkulturen auf einer außerordentlich hohen Empfindlichkeit für kleine Wärmedifferenzen beruhe, welche Ansicht jedoch die neuerlichen Untersuchungen des Verf. als völlig unhaltbar hinstellen, da selbst Temperaturdifferenzen von 5—6° C auf die Wachstumsrichtung von B. Zopfii ohne jeden Einfluß sind.

Sorgfältige Wiederholung der Rotationsversuche bestätigten die Annahme, daß es sich um Geotaxis handele, vollkommen (Warum Verf. die scharfe Scheidung zwischen Geotropismus und Geotaxis, wie Wiesner sie gibt, so betont, ist im vorliegenden Falle meines Erachtens nicht ganz verständlich, da es sich um einzellige Organismen handelt, bei denen Geotropismus doch wohl überhaupt kaum in Frage kommt. D. Ref.) und es gelang auch, die Orientierung der Einzelstäbchen direkt unter dem Mikroskop zu beobachten.

Daß die Stäbchen nicht ideal negativ geotaktisch reagieren, d. h. sich in die Vertikale einstellen, führt Verf. auf Chemotaxis, hervorgerufen durch Stoffwechselprodukte der älteren Individuen der Kultur, zurück. Die Chemotaxis und zwar das Sauerstoffbedürfnis der Organismen, kann sogar die Wirkung der Geotaxis aufheben. In kapillaren Bouillonkulturen z. B. steigen die beweglichen Individuen nur dann ans obere Ende der Kultur, wenn beide Enden des Röhrchens geschlossen sind. Bleibt die untere Oeffnung der Kapillare dagegen offen, so sammeln sie sich an dieser Stelle, ihrem Sauerstoffbedürfnis folgend. (Letztere Annahme ist vielleicht nicht ganz einwandfrei, vielmehr ist hier wohl auch an rein mechanische Festlegung der Bakterien durch die Meniskenbildung u. s. w. zu denken. D. Ref.) Vageler (Staßfurt).

**Lafar,** Handbuch der technischen Mykologie. 2. vermehrte Auflage. Jena (Gustav Fischer) 1905. 7. Fortsetzung.

Das 7. Kapitel des V. Bandes — Betriebskontrolle des Brauwesens — ist von Prof. Dr. P. Lindner, Berlin, und Dr. H. Wichmann, Wien, bearbeitet und wird durch allgemeine Betrachtungen über die Aufgaben der biologischen Betriebskontrolle eingeleitet; wenn auch den äußeren Sinneswahrnehmungen eine wichtige Rolle hierbei zukommt, so kann doch nur mit Hilfe des Mikroskopes Entscheidung gebracht werden.

Zunächst wird auf die äußeren Ursachen eines unregelmäßigen Geschmackes aufmerksam gemacht; so kann ein reicher Schimmelbelag an den Kellerwänden die Luft muffig gemacht und diese den Geruch wieder auf das Bier übertragen haben, ohne daß Schimmelpilzsporen selbst in das Bier gelangt sind. Sodann wird auf die Wichtigkeit der Beschaffung trockener und filtrierter Luft hingewiesen und in praktischer Weise gezeigt, wie sich Schimmelbildungen an den weißgestrichenen Kellerwänden nicht in allzu heller Beleuchtung, sondern viel leichter mit einem einfachen Kellerlicht auffinden lassen und wiederholt die Wichtigkeit eines guten Beobachtungssinnes hervorgehoben. Dem Mikroskope aber wird auch auf p. 156 bei allen diesbezüglichen Ermittelungen eine bedeutende Rolle zugewiesen, indem die milchigen Trübungen, die beim

Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Reiben und Scheuern der verschiedenen Utensilien entstehen, untersucht werden müssen.

Der Keimgehalt der Luft und die Bestimmung desselben bildet den Inhalt von § 38 und wird außer den gewöhnlichen Luftkeimen, deren Anzahl je nach dem Feuchtigkeits- und Wärmegrad schwankt, dem Malzstaube eine sehr wichtige Einwirkung zugeschrieben. Interessant ist die Tatsache, daß die Gärungsphysiologen ihre ersten Studien mit Luftuntersuchungen begonnen haben; so suchte auch Hansen in ihnen das Mittel, um Infektionsquellen nachzuspüren. Die Leistungen des Möllerschen Luftfilters und Ergebnisse mit dem Lindnerschen Luftcylinder finden auf p. 162—163 entsprechende Würdigung. Die Wichtigkeit von Gerste, Malz und Hopfen als Träger von Infektionskeimen schildert § 39 und der nächste Paragraph bespricht diesbezüglich die Hefe. Wenn ja auch der Brauprozeß den größten Teil der an genannten Ingredienzien haftenden Keime, deren Menge im unerhitzten Zustande häufig eine enorme ist, zerstört, so sucht doch der intelligente Brauer sich in Besitz tunlichst keimarmer Rohmaterialien zu setzen, da mancherlei Schädigungen durch allzugroße Bakterien-, Schimmelpilz- und wilde Hefenmengen nachweisbar sind.

Für den Praktiker von ganz besonderer Wichtigkeit sind die folgenden Abhandlungen über Tröpfchen- und Adhäsionskultur, ferner die biologische Untersuchung der Bierwürze, Gebrauch der Hefenzählkammer und die Kontrolle der Reinzuchtapparate. Hierauf folgen Angaben über die Reinigungs- und Desinfektionsmittel in der Brauerei, deren Wichtigkeit durch den Satz hervorgehoben wird, daß die mechanische Reinigung unzulänglich sei und durch Anwendung von Hitze oder chemische Reinigungs- und Desinfektionsmittel unterstützt werden müsse. Eine ganze Reihe von derartigen Mitteln wird besprochen, im weiteren aber betont, daß unter allen Umständen die Ansiedelungsmöglichkeiten in allen tieferen Schichten zu vermeiden seien, da auch im Verein mit den angegebenen Mitteln nicht in allen Fällen eine gründliche Reinigung zu gewärtigen ist. Wo in den Gefäßen oder Leitungen die Infektionskeime nicht bloß an den Oberflächen, sondern auch in größeren Tiefen sitzen, wie z. B. in den Poren nicht verkitteten Holzes, in den Krusten, welche der Würzetrub mitunter in schwer zugänglichen Leitungen bildet, in Lederscheiben und in hölzernen Spunden u. s. w., da vermag auch das kräftigste Desinfektionsmittel nicht über die Massen abgestorbener Mikroorganismen wegzuschreiten, indem sich hier eine undurchdringliche Mauer bildet, verstärkt durch alle möglichen Fällungen und Zellreste (siehe § 45).

Aus der Betrachtung über die biologische Analyse des Brauwesens ergibt sich, daß auch hierbei E. Chr. Hansen in besonderer Weise tätig war, indem er auf die brauschädlichen Mikroorganismen aufmerksam machte, und aus Klöckers Handbuch sind auf p. 185 die Einzelheiten bei Untersuchung einer Wasserprobe zusammengestellt. Hansens Mehtode wurde von verschiedenen Seiten ausgebaut und Weichmanns biologische Wasseruntersuchungsmethode fand die größte Verbreitung. Letzterer schuf mit dem Worte „Zerstörungsvermögen" einen besonderen Begriff, durch welchen die Größe der Einwirkung des Wassers selbst auf Würze und Bier in den Vordergrund gestellt wird und gibt dieser Ausdruck die zersetzende Wirkung des Wassers infolge Gehaltes an schädlichen Mikroorganismen in Berück-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sichtigung ihrer Menge und Energie an. Bei Benutzung von Freudenreich-Kölbchen zwecks Einsaat zeigt sich hierbei, daß, je rascher die Zersetzung steriler Würze und Bier eintritt und je geringer die hierzu notwendige Wassermenge, desto schlechter das Wasser ist. Angeführt sind hier noch die sehr handliche Tropfenkultur nach Lindner (p. 174) und Wills Gärprobe (p. 187.)

Besonderes Interesse beanspruchen die im § 47 erwähnten Bakterien der Bierwürze. Wenn auch die für untergärige Biere erzeugte gehopfte Bierwürze im allgemeinen kein günstiger Nährboden, trotz hohen Eiweiß- und Zuckergehaltes, für Bakterien ist, so bietet sie doch einer beschränkten Anzahl derselben zusagende Lebensbedingung; verschiedenen Arten aber, deren noch Erwähnung geschehen wird, ist die Fähigkeit der Bierwürzezersetzung gemeinsam. Einige Arten arbeiten mit solcher Heftigkeit und unter so charakteristischen Erscheinungen, daß sie als eigentliche Würzebakterien von den übrigen in Würze gedeihenden Spaltpilzen zu unterscheiden sind. Lindner bezeichnete die hierher gehörigen Arten als Termobakterien und wollen die diesbezüglichen Einzelangaben auf p. 189—193 nachgesehen werden; jedenfalls stehen sie den echten Fäulnisbakterien nahe. Weiter sind nach Zikes die fluoreszierenden Fäulnisbakterien reich vertreten, denen sich dann noch andere farbstoffbildende Bakterien, u. a. Bac. prodigiosus, anschließen, auch schleimbildende Arten kommen zahlreich vor. Die ermittelten Milchsäurebakterien dagegen besitzen für gehopfte Bierwürze selten größeres Zerstörungsvermögen; eine wirklich schädigende Rolle aber spielen sie bei den Süßwürzen. Eingehendes Studium dieses Paragraphen wird die große Vielseitigkeit der hier in Betracht kommenden Bakterienflora lehren. Den Schluß des Kapitels bilden die Abhandlungen über die Biologie der Bierfilter und das Pasteurisieren der Biere.

Die Bierkrankheiten werden im 8. Kapitel von Just. Chr. Holm, Alb. Reichard und Prof. Dr. H. Will besprochen. In der Einleitung werden die Anfangsforschungen erwähnt, aus denen hervorgeht, daß wohl Chaptal als erster den Ausdruck „Krankheit" bei gegorenen Flüssigkeiten, und speziell bei Wein, verwendete. Die Arbeiten von Rees, Holzner, C. Lintner, auch die von Pasteur (1876) bestanden mehr aus Diskussionen als aus exakten Versuchen, und so war es auch hier Hansen vorbehalten, in den Jahren 1882—83 zu einem Wendepunkt zu gelangen, dessen Ergebnis nach A. Jörgensen darin bestand, daß Hansen nach Gewinnung seiner Reinkulturen experimentell nachwies, daß nicht nur verschiedene Arten von Saccharomyces cerevisiae, S. Pasteurianus, ellipsoideus u. s. w. existieren, sondern daß es in der gewöhnlich verwendeten Hefe besondere Bierkrankheiten erregende Arten gibt. Von den unter dem Namen Saccharom. cerevisiae zusammengefaßten Bierhefen zeigte Hansen, daß sie Gärungsprodukte verschiedener Beschaffenheit geben und daß eine einzige reine Hefenart es vermag, die ganze Gärung, Nachgärung wie Hauptgärung, durchzuführen. Praktisch erprobten sich Hansens neue Errungenschaften bei zwei großen dänischen Brauereien, in welchen 1881—83 sehr unangenehme Bierkrankheiten ausgebrochen waren (p. 200). Es folgen dann äußerst wichtige Untersuchungen über Hefentrübung, unangenehmen Geschmack und Geruch und hat Hansen als Erreger der beiden letzten Erscheinungen den Sacch. Pasteurianus I, welcher seinerzeit aus dem Carlsberg-Bier isoliert wurde, nachge-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wiesen; nach des Forschers Versuchen tritt diese Krankheit nur dann auf, wenn die Infektion am Anfang der Hauptgärung stattfindet.

Die früher häufig erwähnte „Flughefe“, die man als Saccharom. exiguus Rees bezeichnete, wird seit der experimentellen Behandlung der Bierkrankheiten nicht mehr erwähnt.

Dann werden die durch wilde Hefen in obergärigen Bieren hervorgerufenen Krankheiten besprochen, denen sich Mitteilungen über in australischen Bieren aufgetretene unangenehme Geruchserscheinungen anschließen.

Nach Einführung der Reinkulturen von Hefe versuchte man in den ersten Jahren des öfteren statt einer einzigen Art deren zwei zu verwenden, annehmend, daß eine Art allein nicht Haupt- und Nachgärung durchzuführen vermöge. Durch Mischung von zwei Hefen, von welchen z. B. die eine besonders haltbares, die andere ein vollmundiges und $CO_2$ reiches Bier gab, hoffte man ein Getränk zu erhalten, in welchem die guten Eigenschaften der beiden Hefen vereinigt seien. Es ließen sich aber die entstehenden Schwierigkeiten nur durch einen besonders komplizierten Betrieb überwinden, und als man erkannte, daß durch Hefemischungen leicht Bierkrankheiten erzeugt werden, führte sich dieses Verfahren nicht ein; ebenso ungünstig verliefen Versuche, bei denen man Biere mit je einer Hefenart vergären ließ und nach verlaufener Gärung mischte, da deren Haltbarkeit zu gering war.

Ausführlich wird sodann das Ausarten der Betriebsunterhefen besprochen; da auch die reinste Hefe immer von der Nährflüssigkeit und äußeren Umständen abhängig ist, so werden fortgesetzte Einwirkungen besonderer Art eingreifende Veränderungen im Charakter der Rasse herbeiführen, so daß mit der Zeit die gewünschten guten Eigenschaften verloren gehen. Diesbezüglich seien die Arbeiten von Jörgensen, Prior und Will angeführt.

§ 53 bringt die Krankheiten, welche durch Mycoderma und Torula hervorgerufen werden, dann folgen die essigstichigen und umgeschlagenen Biere. Das Langwerden des Bieres, Buttersäurebildung, Einfluß von B. subtilis und der Thermobakterien bilden den Inhalt des § 54. Die Krankheiten des Weißbieres und besonders des Berliner Weißbieres machen sich durch Langwerden und Rotfärbung bemerkbar. Das fadenziehende Weißbier, auch Ziehbier genannt, wurde 1885 zuerst durch Schroeder beschrieben und erst 1889 konnte P. Lindner durch den reingezüchteten Pediococcus viscosus die Ursache klarlegen. Bezüglich der Rotfärbung vermutet Schroeder, daß Fehler beim Maischprozeß oder bei der Malzfabrikation, wenn nicht gar das Wasser die Ursache seien; endgültige Beweise fehlen noch.

In sehr ausführlicher Weise ist auf p. 222—235 die Existenz und das Zustandekommen der Sarcinekrankheit, der gegenwärtige Stand der Sarcinefrage und Weg zur Lösung dieser Frage nebst technischen Angaben besprochen. Den Schluß dieses für den Brauer so äußerst wichtigen Kapitels bilden die Angaben über die Schädigungen durch Saccharom. apiculatus und Dematium pullulans in der Brauerei.

Aus der Einleitung sei hervorgehoben, daß Engel schon 1872 den Sacch. apiculatus in reichlichen Mengen in Bier aus den Weinbaugegenden des Elsaß gefunden hat, und damit stimmen H. Wills

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erfahrungen mit Bieren aus anderen Weingegenden überein, so daß der Ursprung dieser Hefenart klar liegt. Nach Will sollen die Trubsäcke, welche als die gefährlichsten aller Infektionsquellen zu bezeichnen sind, meist diesen Schädling enthalten, welcher sogar in sehr alkoholreichen Bieren eine große Widerstandsfähigkeit zeigt. R. Braun fand in einem Bier trotz seines fast 8 Proz. betragenden Alkoholgehaltes noch nach 5 Jahren lebende Zellen von S. apiculatus. Sehr bedeutend ist die Gefahr der Einschleppung dieses Schädlings und anderer wilder Hefen durch Insekten und staubbeladenen Wind in jener Jahreszeit, in welcher die süßen Früchte reifen, und so darf hier angeführt werden, daß schon im Jahre 1616 eine bayerische Polizeiordnung während des Sommers den zeitweiligen Verschluß offener Kühlpfannen befahl. Wenn auch nicht vollkommen, so läßt sich doch teilweise durch die angeführte Beobachtung diese Polizeiverfügung erklären. Ob aber wirklich Demat. pullulans zu den Bierschädlingen gehört, ist noch nicht mit Sicherheit bewiesen; P. Lindner vermutet, daß vielleicht in einzelnen Fällen, in welchen die Ursache des Langwerdens von Weißbierwürze noch nicht erkannt wurde, auf dessen Einwirkung zurückzuführen sei, aber bestätigende Beweise fehlen zur Zeit noch. Ein reiches Literaturverzeichnis ist diesem Kapitel beigegeben.

Prof. Dr. van Laer, Lafar und Wehmer haben das 9. Kapitel: Mykologie einiger besonderer alkoholischer Getränke bearbeitet und werden zunächst Lambic, Faro, Mars und Krickenbier besprochen, welche vier Biersorten an die längst vergangenen Zeiten erinnern, in denen man die Bierwürze in Brüssel und einigen anderen Orten Brabants ebenso wie den Weinmost durch freiwillig sich einstellende Gärungserreger verarbeiten ließ. Nachdem aber auch hier obergärige und untergärige Biere nach modernem Betriebe jetzt hergestellt werden, traten auch bei diesen genannten Biersorten geänderte Bereitungsweisen ein. Nach Angaben über das alte Brauverfahren folgen Mitteilungen über die chemische Zusammensetzung; über die betreffende Bakterienflora stellte M. Rees die ersten Untersuchungen an, bei welchen er verschiedene Hefenformen fand, die er als vier verschiedene Arten differenzierte. — Durch das Reinzüchtungsverfahren wurden die Gruppen von Mikroorganismen als an der Vergärung beteiligt festgestellt und zwar 1) Bakterien, welche Milchsäuregärung und Schleimigwerden hervorrufen, 2) verschiedene Sproßpilze und besonders S. apiculatus, welch letzterer den Bieren ihren eigentümlichen Geschmack und Geruch verleiht, und 3) echte Saccharomyceten, von welchen van Laer zwei Arten reinzüchtete. — Diese eigenartigen Biere haben auch ihre besonderen Krankheiten, deren eine als Doppelsichtigkeit bezeichnet wird und sich darin äußert, daß das Bier im durchfallenden Licht kristallklar und im auffallenden Lichte trübmilchig erscheint. Diese Krankheit steht nach van Laer in Beziehung zum Erreger des Fadenziehendwerdens, welches im Lambic und Faro häufig vorkommt und durch den Bac. viscosus bruxellensis hervorgerufen wird.

Die folgenden Paragraphen berichten über japan. Sacké, Myrin, chines. Reiswein, Kwaß, Busa, Braga, Negerbier, Maltonwein, Ingwerbier und Tibi, welch letzteres in Mexiko aus einem auf Cactusfeigen (Opuntia) in Größe einer Erbse wachsenden Gärungserreger durch Einsaat in verdünnte Zuckerlösung dargestellt wird (p. 245—257).

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Der 4. Abschnitt bringt die „Mykologie der Brennerei und Preßhefenvegetation“ und beginnt im 10. Kapitel mit „Reinhefe und Reinzuchtsystem“, welches Thema Ingenieur J. Hašek, Prof. Dr. P. Lindner und Dr. W. Kues bearbeiteten. Zunächst wird eingehend die Mikrobenvegetation der Brennereirohstoffe besprochen und dabei auf gelegentliche frühere Angaben hingewiesen, ferner auch die Vegetation in den Getreidemaischen erwähnt. Im § 68 folgt dann ein orientierender Ueberblick über die Biologie der Brennerei- und Preßhefenfabrikation, sowie über die Reinhefe dieser Betriebe. Die nächsten Paragraphen bringen Jacquemins Apparat zur Reinzüchtung von Brennereihefe und ferner die Apparate von Fernbach, Bendixén, Barbet u. a. in Begleitung genauer Zeichnungen. Das Reinhefeverfahren in der Melassebrauerei bildet den Schluß.

Das 11. Kapitel: Die Säuerung des Hefengutes der Brennereien und die Bewahrung des Verlaufes der Gärung der Maischen vor Störung durch Fremdkeime hat Professor K. Kruis-Prag zum Verfasser. Im Eingange werden das Wesen und die Entwickelung des Säuerungsverfahrens besprochen und dann die maßgebenden Theorieen über den vorerwähnten Prozeß angeführt. Hervorgehoben wird, daß die Acidität einen Schutz gegen das Aufkommen und die Entwickelung von Spaltpilzen neben Hefe bietet. Nach Hayduck fängt die Milchsäure erst, wenn ihre Menge 1,35 Proz. erreicht hat, an, die Hefe im Wachstum zu schädigen; 1,5 Proz. bewirken schon eine bemerkbare Störung des Hefenwachstums, während 0,5 Proz. Vermehrung fördernd wirken und bei 3,5 Proz. das Wachstum der Hefen sistiert.

Die von verschiedenen Forschern angegebenen Zahlenwerte, betreffend die Beeinflussung der Hefe durch Buttersäure, gehen dagegen weit auseinander; von Schwefelsäure wird mitgeteilt, daß ein sehr geringer Gehalt = 0,024 Proz. nach Hayduck Wachstum sowie Gärwirkung der Hefe durch Unterdrückung der Spaltpilzentwickelung günstig beeinflusse, 0,1 Proz. jedoch die Gärtätigkeit verlangsame und bei 0,7 Proz. gänzlich aufhöre. Salzsäure wirke noch energischer. Ausführlich werden noch Effronts Erfahrungen und Versuche des Nutzens der Milchsäure bezw. Säuerungsprozesses für die Gärung der Brennereimaischen angeführt.

Die Flora der säuernden Brennereimaischen bildet den Inhalt von § 75; es ist hieraus zu ersehen, daß von den zahlreichen Mikroorganismen, welche bei Bereitung der Hefemaische mit dem Grünmalze eingebracht werden, bei regelrecht geführter Säuerung nur die Spaltpilze der Milchsäuregärung zur Vorherrschaft gelangen. Nach den bisherigen Erfahrungen wird bei normalem Verlaufe immer nur eine Art des Erregers der Milchsäuregärung oder seine Varietät in der Hefenmaische herrschend auftreten und ist es seiner Zeit dem Herausgeber dieses Werkes, Prof. Lafar gelungen, von den in Milch vorkommenden Säuerungsorganismen den für Hefenmaischesäuerung sehr geeigneten Bacillus acidificans longissimus Lafar zu isolieren und als Reinkultur nach entsprechender Vermehrung mit vollem Erfolge zur künstlichen Ansäuerung des Hefegutes zu benutzen. Umfassende vergleichende Untersuchungen sind von Henneberg (p. 296—298) angeführt.

In dem das Kapitel abschließenden § 76 werden noch verschiedene Maßnahmen zum Schutz der Brennereimaische gegen Fremdkeime besprochen und außer den verschiedensten Antisepticis auch die Anwendung

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

des elektrischen Stromes zur Verhinderung der Spaltpilzentwickelung statt der Säuerung empfohlen. Nach Möller sollen Ströme bis zu 5 Ampère bei einer Einwirkung von 15—45 Minuten die verschiedenen Arten von Sacch. cerevisiae günstig beeinflussen, während die verunreinigenden Spaltpilze getötet werden. Auch die drei patentierten Reinigungsverfahren von Büchler, Bauer und Kues (p. 305) werden am Ende noch angeführt.

Im 12. Kapitel behandelt Prof. Dr. P. Lindner die Betriebsstörungen und die Betriebskontrolle; er beginnt mit der Nachweisung der häufigeren Betriebsfehler und geht dann auf die Schaumgärung in der Spiritusbrennerei über. Nach den bis jetzt gesammelten Erfahrungen scheint der Vergärungsgrad und die Konzentration der Anstellhefe auf die Entstehung der Schaumgärung von Einfluß zu sein; Mittel zur Abstellung sind auf p. 314 angeführt. Ob die Verschleimung der Hefenzellhäute bei der Schaumgärung eine ungünstige Rolle spielt, ist noch ungewiß.

Bei der Flockenbildung in der Preßhefenfabrikation (§ 79) scheinen Sacch. apiculatus und eine Hefe mit langgestreckten Zellen die Verursacher zu sein; eine Fabrik, die unter dem Einflusse des Windes litt, beobachtete zutreffenden Falles Flockenbildung, und eine andere, welche nur Reinhefe verwendete und keimfrei gemachte Luft einließ, blieb verschont. Genauere Untersuchungen brachten erst die letzten Jahre. Barendrecht machte die Beobachtung, daß an dem Zustandekommen stets ein Bakterium beteiligt sei und bezeichnete es als Leuconostoc agglutinans und Henneberg isolierte mehrere Arten. Das einfachste Mittel zur Entfernung der agglutinierenden Bakterien ist eine stärkere Säuerung. Auch chemische Stoffe sollen bei der Flockenbildung der Hefe mitwirken (p. 317). Rullmann (München).

**Hansen, Emil Chr.,** Considerations on technical mycology. (Journal of the Institute of Brewing. Vol. XI. 1905. No. 7.)

Anläßlich der Eröffnung der neuerrichteten Abteilung für technische Mykologie am Heriot Watt College in Edinburgh war Prof. Dr. E. Chr. Hansen von der Direktion eingeladen, eine Vorlesung zu halten; sie ist in der genannten Zeitschrift wiedergegeben. Nachdem der Vortragende erklärt hatte, was unter technischer Mykologie zu verstehen ist, gab er eine Uebersicht über die Entwickelung der Mikrobiologie mit besonderer Rücksicht auf die technische Seite. In kurzen Zügen wurde so auch das Reinzuchtsystem des Vortragenden und dessen praktische Konsequenzen geschildert, zuerst dessen Anwendung in der Bierfabrikation und danach in den anderen Zweigen der Gärungsindustrie. Unter den Untersuchungen der neuesten Zeit wurde besonders bei denjenigen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie verweilt.

In dem 2. Abschnitte seiner Rede spricht sich der Vortragende über die merkwürdige Entwickelung aus, welche im Laufe der letzten Dezennien mit der Errichtung gärungstechnischer Institute in den verschiedenen Ländern stattgefunden hat. Die technische Mykologie ist ein besonderes Fach an den technischen Hochschulen geworden. Es wurden ferner die Hauptpunkte bei der Errichtung des Carlsberg Laboratoriums unter der Direktion der königl. dänischen Gesellschaft der Wissenschaften erörtert. Auch wurde der verschiedenen Stationen und Laboratorien Erwähnung getan.

Mit besonderer Wärme hob der Vortragende die allgemeine Be-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutung der technischen Mykologie, nicht nur in praktischer, sondern zugleich auch in theoretischer Beziehung hervor. Er zeigte, wie diejenigen Untersuchungen, welche darauf ausgehen, für das praktische Leben bedeutsame Resultate zu schaffen, einen erzieherischen Einfluß besitzen, welchen oft rein theoretische Untersuchungen entbehren, und wies auf die Feuerprobe hin, welcher die Laboratorienresultate unterworfen sind, wenn sie in der Praxis benutzt werden sollen.

Lange Zeit hindurch mußte diese praktische biologische Wissenschaft kämpfen, um einen Platz an Seite der Schwesterwissenschaft, der Chemie, zu erhalten, die ja viel früher auf dem praktischen Gebiete angefangen hatte; dieser Kampf ist noch nicht ganz ausgekämpft. In derselben Weise hat die technische Wissenschaft überhaupt ihren Kampf mit den alten, rein akademischen Wissenschaften auszustehen gehabt.

Der Vortragende begrüßte mit Freude die große Entwickelung, welche die Versuchsstationen, die technischen Laboratorien und die technischen Schulen besonders in Deutschland erreicht haben und wie der Kaiser selbst dieser Bewegung Interesse erwiesen hat; ihm ist es zu verdanken, daß die deutschen technischen Hochschulen jetzt auf gleiche Stufe mit den Universitäten gestellt worden sind, insofern als sie das Recht der Verleihung der Doktorwürde erhielten.

Ref. möchte zum Schlusse darauf aufmerksam machen, daß in den deutschen Uebersetzungen der genannten Vorlesung, welche sich in verschiedenen Fachschriften finden, mehrere Mißverständnisse eingelaufen sind. Klöcker (Kopenhagen).

**Viala, P.** et **Pacottet, P.,** Sur les levures sporulées de Champignons à périthèces (Gloeosporium). (Compt. rend. de l'acad. des sciences de Paris. T. CXLII. 1906. p. 458—461.)

Die Bildung von endogenen, den Askosporen ähnlichen Sporen seitens der Saccharomyceten ist als ein den wahren Hefen eigentümliches Merkmal betrachtet worden (Hansen); nach Verff. fände eine solche Sporenbildung auch bei parasitischen Pilzen, dem Gloeosporium ampelophagum Saccardo (Anthraknose des Rebstockes) und dem Gloeosporium nervisequum Saccardo (Anthraknose der Platane) statt.

Die auf zuckerhaltigen Nährböden ausgesäten Sporen ergeben ein feines Mycel, das sich in Glieder teilt; diese zerfallen schließlich in Zellen, die wie Hefen zu knospen beginnen. Die ersten so erhaltenen Hefegenerationen pflanzen sich, immer wieder auf zuckerhaltige Nährböden gebracht, auch weiter durch Knospung fort. Indem sie andererseits von einer einzigen Hefezelle ausgehen, haben die Verff. auch zu einem Fadenmycel und von diesem zu den verschiedenen Organen des Gloeosporium gelangen können; dieser umgekehrte Weg ist aber langwierig.

Nicht alle den beiden Glöosporien analogen Pilze, Ascochyta Pisi, Guignardia Bidwelli z. B., sind im stande, knospende Hefen und Sporenhefen zu bilden. Houard (Paris).

**Vuillemin, P.,** Le problème de l'origine des levures. (Revue générale des sciences pures et appliquées. 1906. 15. Mars.)

Dieser Aufsatz ist eine sehr vollständige und eingehende Zusammenstellung des gegenwärtigen Standes der Frage von dem Ursprung der Hefen, wobei Verf. sich besonders auf die jüngsten Arbeiten von Viala

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

und Pacottet stützt. Diese Autoren haben tatsächlich das Auftreten von Hefeformen, die wie wirkliche Saccharomyceten Sporen bilden können, bei der Entwickelung von Askomyceten feststellen können, von denen der eine, Gloeosporium ampelophagum (Parasit der Anthraknose des Rebstocks) den Sphäriaceen nahezustehen scheint, der andere, Gloeosporium nervisequum (Parasit der Anthrakose der Platane), Perithecien bildet, die von Klebahn beschrieben worden sind. Wenn man diese beiden Pilze in zuckerhaltigen Medien züchtet, so bilden sie typische Hefeformen, welche, auf Glimmerblättchen gebracht, den Sporen der Saccharomyceten vollkommen gleiche Sporen bilden. Viala und Pacottet sind der Meinung, daß ihre Beobachtungen die askogene Natur der Saccharomyceten wieder zweifelhaft machen und das Problem vom Ursprung der Hefen von neuem als fraglich hinstellen. So wäre also die einst so umstrittene Frage nach dem Ursprung der Hefen wieder offen, die seit den hervorragenden Untersuchungen Hansens und seiner Schüler Klöcker und Schiönning und der Entdeckung der Kopulation bei verschiedenen Hefen durch Barker und uns endgültig gelöst schien. Vuillemin erweist sich als begeisterter Anhänger der Ansichten von Viala und Pacottet. „Die Unterscheidung zwischen den Saccharomyceten und den wilden Hefen wird in dem Augenblick hinfällig, wo die den Endosporensäcken der Saccharomyceten zugeschriebene Bedeutung von Schläuchen unsicher oder gar unwahrscheinlich wird", sagt Vuillemin; und weiter: „Weit entfernt, daß die Saccharomyceten einen eigenen Typus bildeten, der in der großen Klasse der Askomyceten isoliert dastände, sind sie eine Zusammenfassung äußerlich ähnlicher Formen, die durchaus nicht notwendig nahe verwandt zu sein brauchen und deren Beziehungen zu den anderen Eumyceten unbestimmt sind. Die Gruppe der Saccharomyceten hat einen ähnlichen Wert, wie die der Mucedineen. Es ist eine vorläufige Gruppe, die einstweilen zwischen den Fungi imperfecti einen Platz findet." Dies sind mit seinen eigenen Worten die Schlüsse Vuillemins.

Indes muß man konstatieren, daß der Verf. viel zu viel Gewicht auf übrigens recht unvollkommene Versuche von Viala und Pacottet zu legen scheint. Diese Versuche müßten, unseres Erachtens, nachgeprüft werden und dürfen nur mit größter Vorsicht beurteilt werden. Man muß sich tatsächlich fragen, ob diese Autoren nicht ganz einfach Opfer irgendwelcher Verunreinigungen ihrer Kulturen geworden sind, so paradox scheinen ihre Schlüsse. Sie nehmen keine Rücksicht auf die neueren Entdeckungen auf dem Gebiete der Befruchtung von Hefen, wie die von Barker und von uns gemachten, die heutigentags als feststehende Tatsachen angesehen werden und die Selbständigkeit der Saccharomyceten genügend zu beweisen scheinen.

Vuillemin ist bemüht, die Lücken in der Arbeit von Viala und Pacottet auszufüllen und ihre Schlüsse mit den Entdeckungen der Kopulation von Hefen in Einklang zu bringen. Er gibt eine gewiß interessante Erklärung, welche aber uns nicht befriedigt. Der ausgezeichnete Botaniker hält die Schizosaccharomyceten und die Zygosasccharomyceten Barkers, wo man im Augenblick der Schlauchbildung eine Kopulation beobachtet hat, für wirkliche Askomyceten und nicht für Saccharomyceten. Dies ließe sich im Notfalle für die Schizosaccharomyceten verteidigen, die sich nicht, wie die übrigen Hefen, durch Knospung vermehren, sondern durch Spaltung in gleiche Teile. Hansen hat sogar diese Eigenschaft für genügend erklärt, um in seiner neuen Klassifikation die Schizo-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

saccharomyceten von den Hefen zu trennen. Gleichwohl muß man zugestehen, daß sich die Kopulation und die Sporenbildung in vollkommen gleicher Weise bei den Schizosaccharomyceten und den Zygosaccharomyceten vollzieht, oder daß diese letzteren sich außer durch die Kopulation durch nichts von den industriellen Hefen unterscheiden. Wenn andererseits die Schizosaccharomyceten sich von den gewöhnlichen Hefen durch ihre Spaltung in gleiche Teile entfernen, so nähern sie sich wiederum dem S. Ludwigii, der durch seine zwischen Knospung und Spaltung in gleiche Teile in der Mitte stehende Vermehrungsweise eine Uebergangsform zwischen Schizosaccharomyceten und Saccharomyceten bildet, und andererseits muß man den S. Ludwigii unbedingt zu den Hefen rechnen.

Wenn man alles in allem die Schizosaccharomyceten auch als eine etwas entwickeltere Gruppe als die Hefen betrachten darf, so kann man doch unmöglich leugnen, daß sie den Saccharomyceten sehr nahe stehen durch die Art und Weise der Sporenbildung, die derjenigen bei den unbestreitbar zu den wirklichen Hefen gehörenden Zygosaccharomyceten gleich ist.

Vuillemin gesteht zu, daß die Saccharomyceten nur eine oberflächliche Aehnlichkeit mit den Schizosaccharomyceten und den Zygosaccharomyceten haben, die Askomyceten sein sollen. Die Saccharomyceten sollen sich von den Fadenpilzen ableiten lassen, von denen sie weiter nichts als jetzt feststehende Entwickelungsformen wären; ihre Sporenbildung soll eine einfache Einkapselungserscheinung und nicht auf eine Stufe mit den Schläuchen zu stellen sein. Die Sporenbildung ist in der Tat ein Vorgang ohne Befruchtung. Die Kopulation, die wir bei S. Ludwigii, S. Saturnus und der Johannisberger Hefe festgestellt haben, und die zwischen den Sporen im Augenblicke der Auskeimung stattfindet, ist nach Vuillemin einer Befruchtung nicht gleich zu achten, sie ist vielmehr einfach eine anastomotische Erscheinung, wie man sie so häufig bei Pilzen antrifft. Dagegen kann man Vuillemin leicht einwenden, daß es weder einen morphologischen noch einen cytologischen Unterschied zwischen einem Schlauch der Schizosaccharomyceten, der Zygosaccharomyceten und der Saccharomyceten gibt, wie wir festgestellt haben, und daß man infolgedessen diese Fortpflanzungsorgane, die übrigens histologisch alle Merkmale eines Schlauches besitzen, miteinander auf eine Stufe stellen muß. Was die Vereinigung der Sporen betrifft, so möchten wir fragen, wenn man sie trotz der sie begleitenden Vereinigung der Kerne nicht als Kopulation gelten lassen will, wie man dann überhaupt eine wirkliche Kopulation von einer Anastomose unterscheiden soll, da es doch jetzt anerkannt ist, daß das einzige Merkmal der Kopulation die die Vereinigung des Cytoplasma begleitende Vereinigung der Kerne ist. Wenn man den Anschauungen Vuillemins beipflichten wollte, so müßte man entweder die Anastomosierungen von Pilzen mit der wirklichen Befruchtung auf eine Stufe stellen, oder man dürfte der Kopulation nicht mehr jene wichtige physiologische Rolle beimessen, die man ihr zugeschrieben hatte, und zwar ebensowohl bei den Tieren wie bei den Pflanzen. Guilliermond (Lyon).

**Schmidt, H.,** Zur Kenntnis der Hefegärung. (Zeitschr. f. exp. Pathologie u. Therapie. Bd. I. 1905. Heft 3.)

Bestätigung der Versuche von Lépine und Marty, welche gefunden haben, daß Pankreaszusatz die Hefegärung verstärkt. Zu den

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchen des Verf. wurden die Pankreaspräparate, Pancreatus und Pankreon, sowie mehrere Hefearten benutzt. Verf. kam zu dem Ergebnis, daß Zuckerlösungen, selbst solche von 10—15 Proz. Glykose, bei Gegenwart von Pepton, besonders aber bei Gegenwart von Pankreaspulver, Pankreatin oder Pankreon, durch beliebige Hefearten zu sehr viel schnellerer Vergärung gebracht werden als reine Zuckerlösungen unter den gleichen Umständen. Es handelt sich hierbei nicht um Glykolyse, sondern um eine Aktivierung der Hefegärung. Die stärkere Vergärung tritt selbst dann noch ein, wenn die Hefe aus irgend einem Grunde die reine Zuckerlösung gar nicht angreift.

Kutscher (Berlin).

**Röhling, Alfr.,** Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des Saccharomyces apiculatus. [Inaug.-Diss.] 8°. 57 p. Erlangen 1905.

Es ist festgestellt, daß die zugespitzten Hefen (Saccharomyces apiculatus) auf Gipsblöckchenkulturen Sporen bilden, welche in mit Traubenzucker versetztem Pferdemistauszug zur Hemmung gebracht werden können.

Die zugespitzten Hefen sind demnach echte Saccharomyceten.

Das Alkoholbildungsvermögen der verschiedenen Reste des Saccharomyces apiculatus kann durch Sauerstoffzufuhr bedeutend erhöht werden. Zugleich findet eine starke Zellvermehrung statt.

Die untersuchten Reste des Saccharomyces apiculatus sind gegen den Einfluß chemischer Stoffe sehr empfindlich; namentlich wirken schweflige Säure, welche sich z. B. beim Einschwefeln der Fässer bildet, wie der Alkohol hemmend ein.

Sind in einer gärenden Flüssigkeit Saccharomyces apiculatus-Rassen uod Weinheferassen anfangs in gleicher Menge oder sind erstere in größerer Anzahl vorhanden, so wird der Gärverlauf durch die Saccharomyces apiculatus-Rassen verlangsamt und das Gärprodukt durch die von ihm gebildeten unangenehmen Bukettstoffe stark beeinflußt. War dagegen die Weinhefe von Anfang an in der Ueberzahl da, so unterdrückt sie das Aufkommen der Saccharomyces apiculatus-Rassen und die Gärung verläuft so auch ohne Bildung unangenehmer Bukettstoffe und verhältnismäßig großer Mengen flüchtiger Säure.

E. Roth (Halle a. S.).

**Bettges, W.,** Zur Sarcinafrage. Erwiderung auf die berichtigenden und ergänzenden Bemerkungen von H. Hjelte Claussen. (Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XXIII. No. 25. p. 311/12. Kiel, Schloßbrauerei).

Gegenüber einer Veröffentlichung Claussens (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1906. No. 23), die sich mit einer gemeinsamen Arbeit des Verf. mit Heller über die Sarcina-Frage befaßt (Wochenschrift für Brauerei. Bd. XXIII. No. 7. p 69—74), hält Verf. seine dort gemachten Angaben aufrecht, z. B. das Wachstum des von ihm isolierten Pediococcus auf sehr schwach ammoniakalischen Nährböden. Die Methode des Sarcina-Nachweises mittels Fluorammon nach Claussen versagte trotz genauer Einhaltung der Versuchsbedingungen, die Ursache dafür lag in zu großer Empfindlichkeit der vom Verf. isolierten Pediokokken gegen Fluorammon, das dieselben schon in 1-proz. Lösung tötete, während die von Claussen isolierten Arten diese Konzentration noch ertrugen. Auf den Vorwurf, das vom Verf. empfohlene Nährsubstrat (kleister-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haltiges, schwach ammoniakalisches Bier) entspreche nicht dem von Hansen aufgestellten Prinzip, nach welchem bei biologischen Untersuchungen für Brauereizwecke nur die in der Brauerei vorkommenden Nährflüssigkeiten zu verwenden seien, erwidert Verf., daß auch endvergorenes steriles Bier mit gleichem Erfolg als Nährmedium verwendet werden kann, vor dem aber das von ihm empfohlene Nährsubstrat den Vorteil habe, daß die Entwickelung der Pediokokken eine erheblich schnellere sei. Mohr (Berlin).

**Sian, R. L.**, Brewery infection and pure yeast. (Journal of the Institute of Brewing. Vol. XII. 1906. No. 2.)

Verf. teilt zuerst einige Untersuchungen über den Keimgehalt der Würze an verschiedenen Stellen in der Brauerei mit. Danach geht er zur Besprechung seiner Versuche mit Reinzuchthefe nach Hansen in einer englischen Brauerei über. Er hat zur Herstellung von „running beers“ d. h. nicht gelagerten Biersorten, gute Ergebnisse mit einer Einzellkultur erhalten, dagegen spricht er bestimmt aus, daß die Einzellhefe nicht für „stock beers“, d. h. diejenigen Biersorten, welche 1 Monat mindestens nach dem Fassen der Biere gelagert werden sollen, benützt werden kann. Das ist also dasselbe, was früher hervorgehoben worden ist.

Zuletzt bespricht Verf. einen billigen Mikrophotographieapparat, mittels welchem er die auf den drei die Abhandlung begleitenden Tafeln reproduzierten Photographieen von Hefezellen hergestellt hat.

Klöcker (Kopenhagen).

**Rheinfels, Curt**, Das Maltodextrin $\gamma$, ein Zwischenprodukt der diastatischen Stärkehydrolyse. [Diss.]

Die hydrolytische Spaltung der hochmolekularen Stärke ist schon vielfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen, ohne daß ein endgültiges Resultat erzielt wäre. Der Grund hierfür liegt in der Mangelhaftigkeit der Isolierungs- und Untersuchungsmethoden, auf die wir noch immer angewiesen sind. Immerhin aber kann man behaupten, daß eine größere Anzahl wohl charakterisierter Zwischenprodukte mit abnehmendem Molekulargewicht entsteht, die man, nach ihrem Verhalten gegen Jodlösung, als Amylo-, Erythro- und Achroodextrine bezeichnet. Zu diesen letzteren gehören auch die Maltodextrine, die der Maltose am nächsten stehenden Abbauprodukte, und speziell das Maltodextrin $\gamma$.

Dieses Maltodextrin $\gamma$ wurde zuerst von Grüters (Zeitschr. f. ang. Ch. Bd. XVII. 1904. p. 1169) aus einem Stärkesirup isoliert, der mit Oxalsäure bei 1,5 Atm. Ueberdruck erhalten war. Die Konstanten dieses Produktes wurden von Gruters, die spezifische Drehung zu $[\alpha]_D = 160^0$ und das Reduktionsvermögen zu R = 61 Proz., angegeben, Daten, die bei der geringen, ihm zur Verfügung stehenden Substanzmenge nur als Annäherungswerte bezeichnet werden können. Verf. hat nun Stärke mit einem Malzauszug bei 70°, also einer für die Diastase ungünstigen Temperatur, bis eben zum Verschwinden der roten Jodreaktion verzuckert und aus dem Sirup durch Fraktionieren mit Alkohol-Wassermischungen verschiedener Konzentration etwa 12 g eines dem Maltodextrin $\gamma$ ähnlichen Produktes isoliert. Um diese immerhin kleine Ausbeute zu erreichen, waren 32 Fraktionsreihen mit rund 250 Einzelfraktionen erforderlich, woraus so recht die Schwierigkeit der Isolation erhellt. Zur weiteren Bestätigung dieses Körpers wurden auch die Nachbarfraktionen, die allerdings noch zuckerhaltig waren, untersucht,

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

so daß im ganzen 6 Proben analysiert wurden. Da eine quantitative Zuckerbestimmung im gewöhnlichen Sinne in diesen Dextrinzuckergemischen unmöglich ist, wurde die Zuckermenge durch vergleichende Osazonproben (mit reiner Maltose) ermittelt, zwar nur eine Annäherungsbestimmung, aber immerhin für den Nachweis ausreichend, daß das Maltodextrin $\gamma$ sich auch unter den diastatischen Abbauprodukten findet. Nach allen diesen Proben zeigte das Maltodextrin $\gamma$ eine spezifische Drehung von 163—167° und ein Reduktionsvermögen von 58—62 Proz., wobei für die Abweichungen gegen Gruters Werte das Konto der Versuchsfehler zu belasten ist. Bemerkt sei noch, daß Verf. den „Dextrosewert" Osts (Chem.-Ztg. Bd. XIX. 1885. p. 1501) weitgehend benützte. Diese Zahl, die als Kriterium der Reinheit eines Sirups von Ost in die Zuckerchemie eingeführt ist und als solche vorzügliche Dienste leistet, gibt die Menge der mit Salzsäure in Dextrose überführbaren Kohlenhydrate unmittelbar in Prozenten an, während die Differenz des Dextrosewertes gegen 100 die Menge der Kondensations- und Zersetzungsprodukte ergibt, die bei den mannigfachen Operationen aus den empfindlichen Kohlenhydraten entstehen. Nimmt man diese Verunreinigungen als inaktiv und nicht reduzierend an, was jedoch wahrscheinlich nicht immer zutrifft, so bedürfen alle direkt ermittelten Werte des Reduktionsvermögens und der spezifischen Drehung einer Korrektur, der Umrechnung auf 100-proz. Kohlenhydrate. Die auf diese Weise berichtigten Daten des Maltodextrins $\gamma$ lauten: $[\alpha]_D = 170—173°$ und $R = 61—64$ Proz. Autoreferat.

**Franke, Otto,** Die Zukunft der Weißbierbrauerei. (Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XXIII. No. 30. p. 384 - 386.)

Verf. berichtet über ein neues Verfahren zur Herstellung von Weißbier, das darin besteht, daß die nach einem der üblichen Maischverfahren hergestellte Würze bei 50—52,5° mit Milchsäurebakterienkulturen gesäuert wird; nach erfolgter Säuerung werden die Bakterien durch Pasteurisieren abgetötet und die pasteurisierte Würze mit bakterienfreier Betriebshefe oder mit Reinzuchthefe zur Gärung angestellt. Die Hauptvorteile des Verfahrens sind einmal die Möglichkeit der Regulierung des Säuregrades der Würze und weiter die Erzielung haltbarer Würzen, die auch versendet werden können, um erst am Bestimmungsort selbst zur Gärung angestellt werden zu können. Mohr (Berlin).

**Löb, Walther,** Zur Kenntnis der Assimilation der Kohlensäure. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 541.)

Verf. bringt einen Beitrag zur Kenntnis der chemischen Seite des Assimilationsvorganges „durch eine Zuckersynthese aus Kohlensäure und Wasser unter Bedingungen, die zu den von den lebenden Pflanzen benutzten in bestimmten Beziehungen stehen".

Nach dem Vorgange anderer Forscher (Berthelot u. A.) verwendete Verf. die stille elektrische Entladung als Energiequelle für die Einleitung der Reaktionen, die außerhalb der lebenden Pflanze gewissermaßen eine Nachahmung der Kohlensäureassimilation auszuführen gestatten. Die dermaßen angestellten Versuche ergaben einen deutlichen Zusammenhang mit dem Assimilationsprozeß, da durch die stille Entladung die Kohlensäure bei gewöhnlicher Temperatur in Kohlenoxyd und Sauerstoff zerlegt wird und das Kohlenoxyd alsdann zu weiteren Umsetzungen synthetischer Art fähig ist, die zu Ameisensäure, Formaldehyd

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und komplizierteren Verbindungen führen. Die physikalischen Eigenschaften und chemischen Wirkungen der stillen Entladung begründen den Versuch, gerade mit ihrer Hilfe dem Assimilationsproblem näher zu kommen und den chemischen Gang der Reaktion

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O = C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

aufzuklären.

Verf. studierte nun die Wirkung der elektrischen Entladung auf Alkohol, speziell in Gegenwart von Kohlensäure. Er gibt eine genaue Darstellung seiner Versuchsanordnung und geht ausführlich auf den Verlauf und inneren Zusammenhang der Reaktionen ein, welche bei den von ihm gewählten Kombinationen möglich erscheinen. Das Verhalten der feuchten Kohlensäure wurde speziell an folgenden Zusammenstellungen ermittelt:

a) Kohlensäure und Wasser,
b) Kohlenoxyd und Wasser,
c) Kohlensäure, Wasser und Sauerstoffdepolarisator,
d) Kohlensäure, Wasser und Wasserstoff,
e) Kohlenoxyd, Wasser und Wasserstoff,
f) Formaldehyd und Wasser.

Zur Ermittelung der Rolle des Aethylalkohols bei der Kohlenhydratsynthese unter dem Einfluß der stillen Entladung untersuchte Verf. die folgenden Kombinationen:

g) Aethylalkohol und Wasser,
h) Acetaldehyd und Wasser,
i) Alkohol und Kohlensäure,
k) Essigsäure und Wasser,
l) Methan, Kohlensäure und Wasser.

An die gewählte Versuchsanordnung knüpft Verf. interessante Ausführungen theoretischer Art und teilt anschließend hieran die erzielten Versuchsresultate im einzelnen mit. Er weist darauf hin, daß es ein ganz aussichtsloses Beginnen sein kann, in der Pflanze nach sogenannten Zwischenprodukten der Assimilation zu suchen. Es ist sehr wohl möglich, daß das als erstes Produkt der Reduktion der Kohlensäure unter dem Einfluß der stillen elektrischen Entladung auftretende Formaldehyd in der Pflanze selbst gar nicht zur Bildung kommt. Es genügt die intermediäre Existenz irgend einer reaktionsfähigen Gruppierung von Kohlenoxyd und Wasserstoff, welche Verf. ganz unbestimmt mit $(CO.H_2)$ bezeichnet, für die weitere Erklärung des Kohlenhydrataufbaues. Diese Gruppierung ist jedenfalls das „Element" der Zuckerbildung, und wenn ihre Kondensationsgeschwindigkeit größer ist als ihre Umwandlungsgeschwindigkeit in Formaldehyd, dann wird das letztere gar nicht auftreten. Die Kondensationen werden Halt machen, wenn die bevorzugte Konfiguration erreicht ist, alle Zwischenstufen brauchen nicht in beständiger Form zu entstehen.

Die Entladungsreaktionen machen es wahrscheinlich, daß bei der Spaltung der Kohlensäure zunächst Kohlenoxyd entsteht, das weiter mit dem Wasser reagiert, wobei eben die Gruppe $(CO, H_2)$ zur Entstehung kommt. Diese Auffassung steht in Uebereinstimmung mit der ursprünglichen Form der v. Baeyerschen Hypothese, nach der das Sonnenlicht die Kohlensäure in Kohlenoxyd und Sauerstoff spalten und das Kohlenoxyd sich dann zunächst mit dem Chlorophyll verbinden soll. Die eigentliche synthetische Reaktion scheint sich nach den Ergebnissen der Entladungsversuche jedenfalls zwischen Kohlenoxyd und Wasser abzuspielen. Verf.



Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

erhielt beispielsweise Glykolaldehyd, wenn die Entladung auf ein mit Wasserdampf gesättigtes Gemisch von Kohlenoxyd und Wasserstoff einwirkte. Unter dem weiteren Einfluß der elektrischen Schwingungen ging alsdann das Glykolaldehyd in einen Zucker, $\beta$-Acrose, über. Auch das Auftreten der außerhalb des normalen Reaktionsganges entstehenden Nebenprodukte, wie der Ameisensäure, kann durch Wechselwirkung zwischen Kohlenoxyd und Wasser zu stande kommen.

Zwei Grundreaktionen bilden also die Ausgangspunkte der Assimilation: die Spaltung der Kohlensäure und die Spaltung des Wassers. Die so entstehenden Elemente der Zuckerbildung ($CO, H_2$) wandeln sich dann in Kohlenhydrate, $C_nH_{2n}O_n$, um. Daneben verlaufen eine Reihe anderer, zu Ameisensäure, Methan, Wasserstoffsuperoxyd u. s. w. führender Nebenreaktionen.

Verf. geht am Schlusse seiner Darlegungen noch kurz auf den der Assimilation entgegengesetzten Vorgang des Kohlenhydratabbaues ein. Bei der totalen Verbrennung des Zuckers zu Kohlensäure und Wasser wird der Zerfall ohne Bildung von Zwischenprodukten erfolgen, nach vollständiger Sprengung des Moleküls in die einfachste Gruppierung ($CO, H_2$) wird die vollkommene Oxydation zu Kohlensäure und Wasser eintreten. Anders werden dagegen die Reaktionen verlaufen, wenn der Organismus aus dem Zuckermolekül ohne Sauerstoffaufnahme seine Betriebsenergie beschaffen muß, wie es bei der anaëroben Atmung der Pflanzen, bei der Alkohol- und Milchsäuregärung der Fall ist. Bezüglich des der Alkoholbildung vorausgehenden notwendigen Zerfalls des Zuckermoleküls nimmt Verf. an, daß die geschilderte Spaltung in die Gruppen ($CO, H_2$) erfolgt, welche zum Teil untereinander verbunden bleiben können und weiter aufeinander reagieren. So würden z. B. aus einer Hexose zunächst Triosen entstehen, und diese entweder (je nach Bedarf und Einrichtung [Enzyme] des Organismus) sich in Milchsäure umwandeln (Milchsäuregärung), oder unter weiterer Spaltung sich zu Kohlensäure und Alkohol (alkoholische Gärung) gruppieren.

Vogel (Bromberg).

**Petry,** Ueber die Einwirkung des Labferments auf Kasein. (Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 6.)

Bei quantitativen Versuchen zeigte sich, daß die Abspaltung von Molkeneiweiß nach der Bildung von Parakasein noch immer stetig fortschreitet. Neben dieser sekundären Albumose entsteht aber auch, und zwar in beträchtlichen Mengen, eine Substanz, welche gleichfalls nicht mehr durch Essigsäure aus ihren Lösungen abgeschieden werden kann, somit bereits weiter vom Kasein entfernt ist als das Parakasein, welche jedoch gemäß ihrem Verhalten gegen Ammonsulfat, sowie durch die sonstigen Reaktionen sich als eine primäre Kaseose, entsprechend der von Alexander bei der peptischen Spaltung erhaltenen, zu erkennen gibt. Die Labspaltung besteht somit nicht nur in der einseitigen Abspaltung des Molkeneiweißes, sondern es entstehen auch hier, ebenso wie bei der peptischen Spaltung, primäre Albumosen — vermutlich durch vollkommene Zertrümmerung des Kaseinmoleküls. Außer den genannten Substanzen konnte auch noch eine Modifikation des Parakaseins nachgewiesen werden, eine durch Essigsäure fällbare Substanz, die sich aber vom Parakasein dadurch unterscheidet, daß sie weder durch Kalkzusatz, noch durch Hitze, noch durch verdünnte Zinksulfatlösung gefällt werden konnte.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Bedingungen der Wirksamkeit dieses Ferments festgestellt: es wirkt auch bei neutraler und schwach saurer Reaktion, es zeigt auch bei sehr niedrigen Temperaturen (+ 4°) eine, wenn auch verminderte, so doch auffallend deutliche Wirksamkeit. Versuche über die Beeinflussung der Wirkung (gemessen an der abgespaltenen Molkeneiweißmenge) durch die Fermentmenge ergaben, daß die Wirkung proportional der Quadratwurzel aus der Konzentration war, und somit die Labspaltung des Kaseins gleich den anderen proteolytischen Fermenten dem Gesetze von Schütz und Borissow folgt.

Um so notwendiger war es, in einer weiteren Versuchsreihe das Verhalten der verwendeten (Merckschen) Labextrakte gegen andere Eiweißsubstanzen zu studieren. Die Lösungen zeigten sich völlig unwirksam auf rohes Serumalbumin, gekochtes Eieralbumin, Gelatine. Auf gekochtes Serumalbumin wirkten sie nur in veränderten Versuchsbedingungen (Säuerung und Brüttemperatur) und in verschwindendem Maße ein. Es konnte gezeigt werden, daß eine auf Serumalbumin unter diesen Bedingungen ebenso stark einwirkende Pepsinlösung Kasein bei Zimmertemperatur und neutraler Reaktion nicht anzugreifen vermag. Somit konnte der Einwand, die verdauende Kraft der Labextrakte beruhe nur auf einer Beimengung von Pepsin, widerlegt werden. Ebenso konnte durch das vollständige Versagen der Wirksamkeit gegenüber Albumosen das Vorhandensein von Erepsin ausgeschlossen werden. Es handelt sich vielmehr um ein den Labextrakten eigenes, mit keinem der bisher bekannten proteolytischen Fermente identisches Ferment, das sich durch seine strenge Spezifität gegen Kasein auszeichnet. Das Ferment ist unwirksam gegen die bekanntlich auch ungerinnbare Frauenmilch. Auf geronnenes Kuhkasein (Parakaseinkalk) wirkt es bei neutraler Reaktion ebensowenig ein.

Labgerinnung (resp. Parakaseinbildung) und Labspaltung folgen verschiedenen Gesetzen für die Relation zwischen Konzentration und Wirksamkeit, erstere dem „Zeitgesetz", letztere dem Schütz-Borissowschen Gesetze. Somit können beide trotz ihrer sonstigen Aehnlichkeiten (Spezifität, Wirkung bei + 4°) nicht der Ausdruck einer einzigen Fermentwirkung sein. Ueberdies ließ sich eine Unabhängigkeit beider voneinander dadurch zeigen, daß die Mengen Molkeneiweiß, die bei Gerinnung einer und derselben Milchgattung, durch die gleiche Fermentlösung entstanden, ungleiche waren, wenn die Gerinnungszeiten verschieden waren. Die Verschiedenheit beider Fermente konnte weiterhin noch dadurch bewiesen werden, daß bei Digestion der Extrakte mit Alkalikarbonat die spaltende Wirkung des Extraktes weitaus stärker geschwächt wurde als die koagulierende. Dadurch erscheint das die Parakaseinbildung veranlassende — gerinnende — von dem die Molkeneiweißbildung vermittelnden — spaltenden — Anteil des Labfermentes, wenigstens in ihren Wirkungen, getrennt. Hetsch (Metz).

**Schöne, Albert,** Bakteriologische Untersuchungen und Betrachtungen über das Lagern von Rohzucker. (Die Deutsche Zuckerindustrie. 1906. p. 1337.)

An vorliegender Stelle ist nur der bakteriologische Teil der Abhandlung von Interesse, während die anderen Betrachtungen und die Schlußfolgerungen, welche Verf. aus seinen Untersuchungen zieht, nur den Zuckertechniker interessieren. Veranlaßt wurden die Studien durch



Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

frühere Untersuchungen von Herzfeld und namentlich diejenigen von Zettnow, welcher gefunden hat, daß die schlechte Haltbarkeit von Rohzuckern durch einen Gehalt von Pilzen, nicht von Bakterien, veranlaßt wird. Verf. hat 19 Rohzucker verschiedener Herkunft untersucht und gefunden, daß pro 1 g Zucker die Gesamtzahl der Mikroorganismen innerhalb der weiten Grenzen von 400—16000 geschwankt hat. Die isolierten Organismen wurden in vier Gruppen eingeteilt: Pilze, Kokken, sporenbildende Stäbchen, keine sporenbildenden Stäbchen.

1) Pilze. Die Pilzflora des Rohzuckers ist keine reichhaltige. Fast stets ist Penicillium glaucum vorhanden, der in außerordentlichem Maße die Fähigkeit besitzt, Zuckerlösungen zu säuern und zu invertieren. Selten und sehr selten sind die Aspergillus-Arten und Angehörige der Mucor-Gruppe zu finden; ein weiter gefundener Pilz wurde nicht näher isoliert. Ferner fand Verf. einmal einen Monilia-artigen Pilz und eine Hefe. Von Bakterien wurden im ganzen 34 Arten isoliert, die sich schon im Diffusionssafte finden und deren Verhalten gegen Zucker ein recht verschiedenes ist.

2) Kokken. Diese bilden das Hauptkontingent der auf den Platten erscheinenden Bakterienkolonieen und sind in der Hauptsache harmloser Natur; die Organismen wurden nur annähernd charakterisiert. In zwei Proben wurde Leuconostoc isoliert, der die Saccharose invertiert, ferner ein demselben ähnlicher Organismus mit denselben Eigenschaften. (Die nähere Beschreibung behält sich Verf. vor.)

3) Sporenbildende Stäbchen. Neben den Kokken finden sich stets sporenerzeugende Stäbchen. Auch dem Clostridium gelatinosum oder dem Semiclostridium Maassen nahestehende Organismen sind fast stets vertreten; eine nähere Bestimmung der Arten wurde meist nicht vorgenommen. Alle gefundenen, sporenbildenden Stäbchen bis auf eins, invertieren die Saccharose.

4) Keine sporenbildenden Stäbchen. Diese gehören teils den Fäulnisbakterien, den Coli-artigen, den Milchsäure bildenden oder anderen an. Ihr Verhalten ist dementsprechend gegen Zuckerlösung ein verschiedenes.

Aus den Untersuchungen, mit Reinkulturen angestellt, geht hervor, daß viele der in Rohzuckern gefundenen Organismen Zucker zersetzen, speziell sind es die sporenbildenden und einige Coli-artige Bakterien neben den in erster Linie stehenden Schimmelpilzen. Stift (Wien).

**Wolf, Karl,** Säuregrad und Keimgehalt bei gewöhnlicher und bei pasteurisierter Milch. [Inaug.-Diss.] 8°. 29 p. Berlin 1906.

Das Pasteurisieren der Milch kann nach der Höhe der erreichten Wärmegrade wie nach der Dauer ihrer Einwirkung sehr verschieden sein. Die chemische wie physikalische Eigenschaft ist zudem niemals gleich, auch der Keimgehalt wechselt stark, so daß unter dem Namen pasteurisierte Milch eine solche gehen kann, die ebensowenig, hygienisch betrachtet, gleichartig wie gleichwertig zu sein braucht.

Man muß fordern, daß pasteurisierte Milch einer Temperatur von mindestens 65° C mindestens $^1/_2$—1 Stunde ausgesetzt war. Diese wird bakteriologisch den Anforderungen entsprechen, die man stellen muß.

Physikalisch betrachtet, nimmt das spezifische Gewicht der pasteurisierten Milch infolge des Wasserverlustes ein wenig zu. Dabei ist die Viskosität der pasteurisierten Milch herabgesetzt. Die Milch erscheint

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

dünnflüssiger. In roher Milch sind die Fettkügelchen unregelmäßig in dichte Haufen gruppiert, in der pasteurisierten ganz gleichmäßig verteilt.

Aussehen, Geruch und der eigentümliche Rohgeschmack der Milch erfahren durch Pasteurisieren bei 65° C keine merkliche Aenderung. Der Kochgeschmack stellt sich erst ein, wenn die Milch auf 70° C und mehr erhitzt wird.

Der Säuregrad der pasteurisierten Milch ist gegen die Ausgangsmilch etwas erhöht.

Die in der Milch vorhandenen Eiweißstoffe werden bei Temperaturen unter 69° äußerst wenig verändert, der Kaseingehalt bleibt nahezu derselbe.

Verf. versuchte nun etwa vorhandene Beziehungen zwischen dem Säuregrad und dem Keimgehalt bei gewöhnlicher und pasteurisierter Milch festzustellen, wobei er hervorhebt, daß die Berliner Marktmilch noch immer nicht als ein hygienisch einwandsfreies Nahrungs- und Genußmittel bezeichnet werden kann und daß sie als Säuglingsnahrung mindestens mit höchstem Mißtrauen angesehen werden muß.

Eine konstante Beziehung zwischen Säuregrad und Keimgehalt bei gewöhnlicher Milch besteht nicht, wenn man verschiedene Arten gewöhnlicher Milch vergleicht. Dagegen steigt bei gewöhnlicher Milch derselben Art mit dem Keimgehalt auch der Säuregrad.

Noch weniger kann bei pasteurisierter Milch von einer konstanten Beziehung zwischen Säuregrad und Keimgehalt die Rede sein, einmal, weil ja durch das Pasteurisieren wohl der Keimgehalt, aber nicht der Säuregrad herabgesetzt wird — wenn wir die durch das Entweichen der freien Kohlensäure hervorgerufene geringe Säureabnahme unbeachtet lassen — sodann weil die Säureerreger wohl am empfindlichsten durch das Pasteurisieren getroffen werden.

Ein konstantes Verhältnis — nur bei 20—25 Proz. — besteht zwischen Zeit einerseits und Keimgehalt und Säuregrad andererseits, aber verschieden für gewöhnliche und pasteurisierte Milch.

Bei gewöhnlicher Milch steigen Säuregrad und Keimzahl innerhalb weniger Stunden (steile Kurve), bei pasteurisierter Milch spielen sich dieselben Vorgänge in einer flachen Kurve ab. E. Roth (Halle a. S.).

**Witt, O. N.,** Die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs. (Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. 1906. Heft 604.)

Die Mitteilungen des Verf., auf die hier nur verwiesen werden kann, enthalten eine Schilderung der neueren Verfahren zur Gewinnung von Salpetersäure aus Luft mit Hilfe des elektrischen Stromes, zumal der Methode Birkeland-Eyde. Ehrenberg (Breslau).

**Stutzer,** Die Gewinnung des Stickstoffes für die Landwirtschaft im 20. Jahrhundert. (Deutsche landw. Presse. 1906. No. 55.)

Bis die Salpeterlager in Chile ihrer Erschöpfung entgegengehen, was nach vielfach herrschender Ansicht in etwa 25—30 Jahren eintreten wird, müssen der Landwirtschaft andere Quellen erschlossen sein, aus welchen sie das Stickstoffbedürfnis der Kulturpflanzen zu decken vermag. Es ist selbstverständlich, daß die gewaltigen Stickstoffvorräte der atmosphärischen Luft es sein werden, deren Nutzbarmachung hier in Betracht kommt. Luftstickstoff kann nur mit einem großen Aufwand von Energie in feste Verbindungen übergeführt werden. Bei der che-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mischen Festlegung des Stickstoffes sind daher enorm hohe Hitzegrade erforderlich, bei der Stickstoffassimilation durch Knöllchenbakterien und frei lebende Stickstoffsammler tritt ein starker Verbrauch von stickstofffreiem Nährmaterial durch die in Betracht kommenden Organismen ein.

Nach mühevollen wissenschaftlichen Vorarbeiten wurden im Jahre 1905 die ersten Fabriken eröffnet, welche mit Hilfe der Elektrizität den Stickstoff mit anderen Elementen verketten und Produkte erzeugen, welche in Zukunft von höchster Bedeutung sein werden. Die technisch gewonnenen Produkte enthalten den Stickstoff entweder als Cyanamid und sind in diesem Falle unter dem Namen Kalkstickstoff oder Stickstoffkalk bekannt geworden, oder sie stellen salpetersaure Salze, also wirkliche künstliche Salpeter dar. Mit dem Kalkstickstoff, der durch Einwirkung des Luftstickstoffes auf Calciumkarbid bei sehr hohen Temperaturen entsteht, sind bereits umfangreiche Düngungsversuche ausgeführt worden, die gezeigt haben, daß er in seiner Wirkung dem Ammoniakstickstoff etwa gleichzustellen ist.

Der künstliche Salpeter wird durch direkte Vereinigung der Bestandteile der Luft mittels des elektrischen Stromes und nachfolgende Einwirkung von Wasser erhalten, wobei die zunächst gebildeten Stickoxyde in Salpetersäure übergehen. Der auf solchem Wege gewonnene Salpeter ist häufig nitrithaltig, und Verf. hat daher einige Versuche über die Wirkung von Nitrit auf die Pflanzenentwickelung angestellt. Es ergab sich, daß nitrithaltige Düngemittel bei der Keimung verschiedener Saatwaren nachteilig wirken können und daß auch in der späteren Vegetationszeit die Wirkung des Stickstoffes in Form von Nitrit nicht immer derjenigen des Salpeterstickstoffes als gleichwertig zu erachten ist.

In großem Maßstabe wird in neuester Zeit nach einem Verfahren von Birkeland und Eyde zu Notodden in Norwegen unter Ausnutzung der dort vorhandenen Wasserkräfte Calciumnitrat hergestellt, das sich als völlig frei von Nitrit erwies und daher ein in jeder Beziehung einwandfreies Düngemittel darstellt. Vogel (Bromberg).

**Stutzer,** Die Wirkung von Nitrit auf Pflanzen. (Journal für Landwirtschaft. 1906. p. 125.)

Da der jetzt als Düngemittel zu größerer Wichtigkeit gelangende, unter Ausnutzung des Luftstickstoffes bereits fabrikmäßig hergestellte Kalksalpeter häufig mehr oder minder große Mengen von Nitrit enthält, so hielt es Verf. für angezeigt, die Wirkung dieser Verbindung auf das Pflanzenwachstum näher zu studieren. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen muß angenommen werden, daß Nitrite in hinreichender Verdünnung ebenso günstig wie Nitrate auf die Entwickelung der Vegetation wirken. In stärkerer Konzentration verursachen sie allerdings Schädigungen, die sich besonders bei den Organen, mit denen sie in direkte Berührung kommen, also bei den Wurzeln, bemerkbar machen.

Verf. prüfte bei Vegetationsversuchen zunächst eine größere Anzahl keimender Pflanzen auf ihr Verhalten gegen Nitrit. Rotklee wurde während der Keimung deutlich geschädigt, nach wenigen Tagen war jedoch die ungünstige Wirkung des dem Boden zugefügten Nitrits verschwunden. Auf Futterrüben im ersten Stadium der Entwickelung wirkte das salpetrigsaure Natrium in noch ausgesprochenerer Weise schädigend ein. Gegenüber älteren, aber noch in der Entwickelung befindlichen Pflanzen erwies sich Nitrit als unschädlich, es übte teilweise sogar eine bessere Wirkung auf das Pflanzenwachstnm aus als gleiche Mengen von

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stickstoff im Nitrat. Der Nitritgehalt des auf elektrischem Wege gewonnenen Salpeters kann demnach nach diesen Ergebnissen nicht als bedenklich bezeichnet werden, doch hält es Verf. für wünschenswert, durch weitere Versuche festzustellen, ob höhere Nitritgehalte nicht doch eventuell schädigende Wirkungen hervorrufen. Vogel (Bromberg).

**Schulze, E.,** Ueber den Abbau und den Aufbau organischer Stickstoffverbindungen in den Pflanzen. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 621.)

Verf. gibt in der vorliegenden Abhandlung eine zusammenfassende Darstellung seiner langjährigen Studien über den in phanerogamen Pflanzen erfolgenden Abbau organischer Stickstoffverbindungen, besonders der Eiweißstoffe. In Keimpflanzen verschiedenster Art konnte Asparagin in großer Verbreitung und Menge nachgewiesen werden. Der Stickstoff dieses Asparagins war zweifellos vorher ein Bestandteil von Eiweißmolekülen gewesen. Ebenfalls in den Keimpflanzen weit verbreitet ist das Glutamin, ein Amid, das allerdings nicht in so großer Menge angetroffen wird wie das Asparagin. Eine Anzahl weiterer Stickstoffverbindungen, die in ihrer Quantität jedoch erheblich gegen die genannten zurücktreten, wurden von Verf. und seinen Mitarbeitern als Abbauprodukte der Eiweißstoffe aufgefunden und näher beschrieben.

Die Spaltung der Eiweißstoffe geht in der Pflanze unter Mitwirkung proteolytischer Enzyme (Proteasen) vor sich. Butkewitsch ist es in Schulzes Laboratorium gelungen, aus jungen Keimpflanzen von Lupinus luteus ein Enzym abzuscheiden, das Eiweißsubstanzen unter Bildung von Leucin und Tyrosin auflöste.

Es soll hier nicht näher auf die zahlreichen Einzelheiten der Schulzeschen Darlegungen, die sich auch mit den schwieriger zu erforschenden synthetischen Prozessen des Pflanzenorganismus beschäftigen, eingegangen werden, die einzelnen Phasen der Eiweißsynthese, vor allem die wichtigen Vorgänge, die zur ersten Bildung organischer Stickstoffverbindungen aus dem Stickstoff der anorganischen Bodennährstoffe führen, sind noch nicht genügend klargelegt, es kann aber mit Sicherheit angenommen werden, daß Asparagin und Glutamin, sowie andere Produkte des Eiweißabbaues wiederum als Material zur Eiweißsynthese verwendet werden. Vogel (Bromberg).

**Barthel,** Können die Milchsäurebakterien einen konservierenden Einfluß auf den Stalldünger ausüben? (Deutsche landw. Presse. 1906. No. 25 und 34.)

Da sich sowohl in frischem Kuhkot wie auch in älterem Stalldünger typische Milchsäurebakterien vorfanden, kam Verf. auf den Gedanken, das Säurebildungsvermögen dieser Mikroben wenn möglich für die Konservierung des Düngers nutzbar zu machen, indem durch bestimmte Maßnahmen gerade diese Arten zu kräftiger Entwickelung angeregt werden. Bei kleineren Vorversuchen wurden dem Stalldünger Milchsäurebakterien in Form des im Handel befindlichen „Normalsäureweckers“ und in sauren Molken zugefügt. Es trat eine starke, von Säureproduktion begleitete Gärung ein, bei welcher zweifellos eine Bindung von Ammoniak stattfand. Die bakteriologische Untersuchung solcher mit Bac. acidi lactici vergorener Düngerproben ergab, daß diese Bakterienart fast alle übrigen Düngerorgänismen überwuchert hatte.

Für die landwirtschaftliche Praxis könnte die ammoniakbindende,

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

also stickstofferhaltende Fähigkeit der Milchsäurebakterien nutzbar gemacht werden, indem z. B. Magermilch oder Molken mit saurer Milch angesäuert, mit einem indifferenten Material, wie Sägespänen, Torfstreu oder dergleichen vermengt, und alsdann dem Dünger als Streumaterial zugesetzt werden würden.

Weitere Versuche des Verf. zeigten, daß die bloße Zugabe von Milchzucker zum Dünger genügt, um eine starke von Säureproduktion und Ammoniakbindung begleitete Gärung hervorzurufen. Es ist daher möglich, daß die bei Impfung des Stalldüngers mit saurer Milch und Molken beobachteten Gärungserscheinungen weniger auf die mit diesen Mitteln zugeführten Milchsäurebakterien als vielmehr auf den Gehalt an Milchzucker zurückzuführen sind. Die praktische Ausführung einer Düngerkonservierung auf Grund der dargelegten Vorgänge würde sich also noch vereinfachen lassen. Es dürfte genügen, dem Dünger gewöhnliche, nicht saure Molken hinzuzufügen, die alsdann infolge ihres Gehaltes an Laktose die gewünschten Gärungen einleiten werden.

Vogel (Bromberg).

**Böttlcher,** Die Tätigkeit der Bodenbakterien im Haushalt der Natur. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1905. Heft 10—12.)

Verf. schildert in gemeinverständlicher Form die wichtigsten durch Organismentätigkeit in der Umgebung des Menschen verursachten Vorgänge. Er weist darauf hin, daß die gewaltigen Stickstoffquantitäten der Atmosphäre zunächst für die Ernährung der höheren Pflanzen nicht in Betracht kommen. Der Stickstoff dringt auf demselben Wege wie die mineralischen Stoffe, nämlich durch die Wurzeln, in das Pflanzeninnere ein, und es ist erforderlich, daß er hierbei in der Form von salpetersauren Salzen vorhanden ist. Verf. schildert nun im weiteren Verlauf seiner Darlegungen, wie der mineralische Nitratstickstoff von der Pflanze in organisch gebundenen umgewandelt wird, wie dieser dann den tierischen Körper durchwandert und schließlich durch die Tätigkeit der Harnstoff- und Fäulnisbakterien in Ammoniak verwandelt wird, und wie schließlich aus diesem die Nitroso- und Nitrobakterien wieder Nitrat, also den Ausgangskörper, zurückbilden.

B. bespricht alsdann die in gewissem Maße sich ausgleichenden Prozesse der Verbrennung, Fäulnis und Denitrifikation einerseits und der Stickstoffassimilation durch freilebende und Knöllchenbakterien andererseits. Bei der Verbrennung und Fäulnis tierischer und pflanzlicher Substanzen, sowie bei der Denitrifikation sind Verluste an gebundenem Stickstoff unvermeidlich, wenn sie im Vergleich zu den ihren normalen Kreislauf gehenden Mengen auch gering sind. In ihrer Gesamtheit sind diese Stickstoffverluste doch recht bedeutend, und wenn sie nicht fühlbar hervortreten, so liegt dies daran, daß sie aus dem Vorrat an freiem Stickstoff durch die Vorgänge der Stickstoffassimilation wieder gedeckt werden. Auf die Tätigkeit der an diesen Vorgängen beteiligten Organismen, sowie auf die aus ihrer näheren Kenntnis hervorgegangenen praktischen Maßnahmen zur Stickstoffbereicherung des Bodens geht Verf. ausführlicher ein und kommt schließlich auf die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs auf chemischem Wege zu sprechen. Vogel (Bromberg).

**Pfeiffer, Ehrenberg** und **Reichenbach,** Ueber die Stickstoffbindung im Ackerboden. (Mitt. d. landw. Institute d. Univ. Breslau. Bd. III. 1906. Heft 5. p. 899—927.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Hauptteil der Arbeit ist einer Kritik der von Warmbold[1]) aufgestellten Hypothese gewidmet, wonach auch in sterilisierter Erde Stickstoffbindung stattfinden könne. Zunächst wird in ähnlicher Weise, wie dies seitens des Ref. bei der Besprechung der Arbeit Warmbolds in dieser Zeitschrift geschah[1]), auf die zahlreichen darin enthaltenen Inkonsequenzen hingewiesen, die bei kritischer Prüfung die Deduktionen Warmbolds in einem sehr zweifelhaften Lichte erscheinen lassen. Insbesondere stehen auch Pfeiffer und dessen Mitarbeiter auf dem Standpunkte, daß die von Warmbold angenommene Fehlergrenze für Stickstoffbestimmungen in Erde viel zu niedrig bemessen ist. Durch eine größere Zahl von Bodenanalysen bringen sie weiterhin erneut[2]) den zahlenmäßigen Beweis, daß auch bei sorgfältigster Arbeitsweise die unvermeidlichen Differenzen bei derartigen Stickstoffbestimmungen so groß sind, daß Veränderungen des Stickstoffvorrates im Boden auf diese Weise nur dann ermittelt werden könnten, wenn sie sehr bedeutend wären. Für Parallelanalysen wurden z. B. folgende Abweichungen konstatiert: 0,1366–0,1506, 0,1398—0,1637, 0,2345–0,2583, 0,4689—0,5017 Proz. N. Derartige Differenzen sind nach Ansicht der Verff. unvermeidlich.

Die Arbeitsweise wird ausführlich erörtert und dabei vor allem auf die Notwendigkeit hingewiesen, bei Erdstickstoffbestimmungen stets eine größere Zahl von Parallelbestimmungen auszuführen. Die Erdproben wurden nach Ansäuerung mit einer verdünnten Lösung von Phosphor- oder Weinsäure bei Spiritus- oder Dampfheizung in einem ammoniakfreien Raum rasch getrocknet. Nennenswerte Stickstoffverluste sind hierbei nicht zu befürchten, doch muß beachtet werden, daß humusreiche Bodenarten bei der Entnahme der Analysenproben nicht lufttrocken sein dürfen, weil in diesem Falle eine störende Entmischung während des Abwägens stattfinden kann. Hinsichtlich Titerstellung, Art der Verbrennung (nach Jodlbaur) und Destillation (in eisernen Kolben ohne Kühlung) sei auf die ausführlichen Angaben in der Originalarbeit verwiesen.

Zur Nachprüfung der Befunde Warmbolds wurden unter Innehaltung des von diesem Autor angewandten Verfahrens einige Versuchsreihen mit sterilisierter Erde durchgeführt, die (nach Verlauf von 36 bis 47 Tagen) ausnahmslos keine Erhöhung, sondern vielmehr eine schwache Verringerung des Stickstoffgehaltes (um 0,001—0,006 Proz. N) ergaben. Warmbolds Hypothese von der Stickstoffverbindung auf chemischem Wege konnte also durchaus nicht bestätigt werden.

Weiterhin wendet sich Pfeiffer gegen eine Kritik, die den am Schlusse seiner Arbeit[3]) über „Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau" aufgestellten Thesen seitens des Ref.[4]) zu teil geworden war. Er betätigt sich vorwiegend auf dem Gebiet persönlicher Polemik und hält im übrigen an seiner Ansicht fest, daß bisher noch kein einziger Versuch bekannt geworden sei, der für eine praktisch in Betracht

1) Warmbold, Inaug.-Diss. Göttingen 1905; Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906; Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. p. 560.

2) Thiele, Landw. Vers.-Stat. Bd. LXIII. 1905. p. 161; Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. p. 557.

3) Pfeiffer, Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau (S.-A. aus Mitt. d. landw. Inst. Breslau. Bd. III. 1904. Heft 1); Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. p. 650.

4) Löhnis, Deutsche landw. Presse. 1904. No. 98; Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. p. 232.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kommende Tätigkeit der frei lebenden stickstoffsammelnden Bakterien unter natürlichen Verhältnissen spreche; vielmehr seien alle Erfolge, die ihnen zugeschrieben werden, anders zu erklären, d. h. durch verstärkte Ausnutzung des Stickstoffvorrates im Boden. Insbesondere laufe die Brache „unter allen Umständen" auf einen „forcierten Raubbau an Bodenstickstoff" hinaus. Neue Beweise werden nicht erbracht. Wohl aber behaupten die Verff., Ref. habe durch seine Arbeiten, die ihn zu einer Ansicht führten, die sich mit derjenigen Pfeiffers nicht deckt, „unbewußt ein vorzügliches Beweismaterial für die Bedeutungslosigkeit der frei lebenden stickstoffsammelnden Bakterien unter natürlichen Bedingungen" geliefert. Zur Stütze dieser (etwas sonderbaren) Behauptung wird angeführt, daß Ref. bei Erdproben, die innerhalb eines Jahres demselben Felde entnommen werden, keine, die unvermeidlichen Fehlergrenzen übersteigenden Schwankungen des Stickstoffgehaltes konstatieren konnte. Selbstverständlich beweisen aber diese Befunde durchaus nicht die Richtigkeit der aufgestellten Behauptung, sondern bestätigen nur, ebenso wie die eigenen, oben referierten Analysen der Verff., die vom Ref. wiederholt[1]) betonte Unmöglichkeit, mit Hilfe chemischer Bodenuntersuchungen innerhalb eines Jahres irgendwelche Auskunft über die Bedeutung oder die Bedeutungslosigkeit der frei lebenden stickstoffsammelnden Bakterien zu erlangen.

Den Schluß der in Rede stehenden Arbeit bildet die Besprechung eines von Bippart[2]) veröffentlichten Aufsatzes, in dem an der Hand aktenmäßiger Belege aus den Jahren 1547—1718 gezeigt wurde, daß bei der Dreifelderwirtschaft auf gutem Boden die Stickstoffausfuhr in den Ernten größer gewesen zu sein scheint als der Stickstoffersatz durch die Düngung. Gegen Bipparts Berechnungen werden allerhand Einwände ins Feld geführt, die nach Ansicht des Ref. zum Teil wohl große Wahrscheinlichkeit für sich zu haben scheinen; naturgemäß bleibt man aber auch hier im Zweifel. Löhnis (Leipzig).

**Koch** und **Kröber**, Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten. Vorläufige Mitteilung. (Fühlings landwirtsch. Ztg. 1906. p. 225.)

Die Verff. studierten die durch bakteriologische Vorgänge bewirkte Veränderung in den Löslichkeitsverhältnissen verschiedener Phosphate, deren Wert als Phosphorsäurequelle für die Pflanzen erfahrungsgemäß verschieden war. Durch Zugabe von Dextrose wurden in den Kulturen günstige Bedingungen für die Bildung reichlicher Säuremengen geschaffen. Es ergab sich, daß unter der Einwirkung verschiedenen Impfmateriales (Bac. mycoides, Bac. mesentericus, Erde, Jauche) die Phosphorsäure des Knochenmehles, des Tricalciumphosphats und des Thomasmehls löslich wurde, allerdings in sehr verschiedenem Grade. War den Kulturen jedoch Calciumkarbonat beigefügt, dann trat in keinem einzigen Falle ein Löslichwerden der Phosphorsäure ein, die hierzu erforderliche freie Säure wurde eben durch den kohlensauren Kalk sofort abgestumpft. Beim Thomasmehl war aus dem gleichen Grunde nur eine verhältnismäßig geringe Menge Phosphorsäure löslich geworden, die alkalischen Bestandteile desselben mußten erst durch die gebildete Säure neutralisiert

1) Vergl. z. B. Untersuchungen über die Stickstoffumsetzungen etc. 1905. p. 4 und das Referat über Thieles Arbeit, l. c. p. 559.

2) Bippart, Deutsche landw. Presse. 1905. No. 88 und dies. Centralbl. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 573.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden. Einige Versuche sollten Aufschluß über die Natur der von den Bakterien gebildeten, auf Phosphate löslich wirkenden Säuren geben. Es scheint sich ausschließlich um flüchtige Fettsäuren zu handeln, die Prüfung ergab nur Essigsäure und Buttersäure. Die Verff. beabsichtigen daher, weitere Versuche mit Reinkulturen von Essigsäurebildnern und Buttersäuregärern anzustellen. Die zur Lösung der Phosphorsäure erforderliche Säuremenge ist größer, als nach der chemischen Umsetzungsgleichung angenommen werden darf. Die bessere Wirkung des Knochenmehls in humusreichen Böden erklärt sich nicht nur durch die aufschließende Wirkung der Humus- und Kohlensäure im Boden, sondern auch durch die lebhafte Tätigkeit säurebildender Bakterien in solchen Bodenarten. Die sehr verschiedene Wirkung mancher Phosphorsäuredünger bei gleichzeitiger Kalkdüngung wird durch die Tatsache verständlich gemacht, daß sich die zur Löslichmachung der Phosphorsäure erforderlichen Säuren zunächst mit den leicht reagierenden Kalkverbindungen umsetzen und erst nach Bindung derselben auf die Phosphate einwirken können.

Vogel (Bromberg).

**Stoklasa** und **Vitek,** Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure im Boden. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. IX. 1906. p. 49—105.)

Abgesehen von dem veränderten Titel und einigen neu hinzugefügten einleitenden Sätzen, stimmt diese Veröffentlichung in Text und Tabellen überein mit den im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 102, erschienenen „Beiträgen zur Erkenntnis des Einflusses verschiedener Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrats durch Bakterien“.

Löhnis (Leipzig).

**v. Seelhorst,** Die Brache. (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 71, 72, 73.)

**Bippart,** Wird durch die Brache dem Acker Stickstoff aus der Luft zugeführt, der den Halmfrüchten als Nahrung dient? (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 88.)

v. Seelhorst nimmt gegenüber der Frage, ob während der Brache eine Stickstoffbereicherung des Bodens durch die kräftige Entfaltung der Lebenstätigkeit stickstoffsammelnder Bodenbakterien stattfindet, den von Pfeiffer (diese Zeitschr. Bd. XIII. p. 650) nachdrücklich vertretenen Standpunkt ein, daß eine bemerkenswerte Stickstoffsammlung während der Brache aus den bisherigen Erfahrungen nicht gefolgert werden könne. Pfeiffer hält es bekanntlich für wahrscheinlicher, daß die nach Brachhaltung hervortretende günstige Stickstoffversorgung der Pflanzen auf eine verstärkte Aufschließung des Bodenstickstoffes zurückzuführen sei, daß daher bei Brache nicht nur kein Stickstoffgewinn erzielt, sondern Raubbau an Stickstoff getrieben werde, der sich früher oder später rächen müsse. Die von Caron bei seinen bekannten Untersuchungen über die Wirkung der Brache festgestellten Ertragssteigerungen in den auf das Brachjahr folgenden Jahren erkennt Verf. nicht als erwiesen an, da sich die Beobachtungen Carons nicht auf genügend lange Zeiträume erstrecken. Wäre dies der Fall, „dann müßte man (bei dem auf dem Caronschen Gute Ellenbach üblichen Kulturverfahren) bei der Feststellung einer Erntesteigerung durch die Brache allerdings auf merkliche Stickstoffassimilation schließen“.

v. Seelhorst schließt sich auch in seinen sonstigen Darlegungen der Pfeifferschen Anschauung an und kommt zu dem Schlusse, daß

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

es gut sei, „wenn man sich bei Ueberlegung der Frage der Brachehaltung vor Augen hält, daß man durch sie nicht einen Stickstoffgewinn, sondern eine Abnahme des Stickstoffkapitals zu gewärtigen hat“.

Dieser Schlußfolgerung widersprechen einige von Bippart mitgeteilte geschichtliche Tatsachen. B. hat urkundliche Aufzeichnungen über die Erträge und Düngung des Ackerlandes der jetzigen fürstlichen Domäne Arnstadt i. Th., welche sich auf fast 200 Jahre Wirtschaftsbetrieb beziehen — von Mitte des 16. bis Mitte des 18. Jahrhunderts — einer genauen Durchsicht unterworfen. Die mitgeteilten Zahlen bestätigen in klarer Weise die ja auch von keiner Seite bestrittene Tatsache, daß die in den Ernten gewonnenen Stickstoffmengen häufig beträchtlich höher sind als die durch den Dünger zugeführten. Verf. hält es für unwahrscheinlich, daß die Halmfrüchte das Mehr an Stickstoff aus altem Vorrat an Bodenstickstoff oder von durch Schmetterlingsblütler zugeführtem Stickstoff hätten entnehmen können, es bleibt demnach als einzige Stickstoffquelle, aus welcher die Pflanzen ihren Bedarf decken konnten, der freie Stickstoff der Luft. Bei der beschriebenen Wirtschaftsweise wurde regelmäßig $^1/_3$ der Ackerfläche gebracht und dadurch die stickstoffsammelnden Bakterien zu wirksamer Tätigkeit angeregt.

Die von v. Seelhorst und Pfeiffer aus den Rothamsteder Versuchen abgeleitete geringe Bedeutung der Stickstoffsammlung während der Brache erklärt Verf. durch die verschiedenartige Brachebearbeitung mit den alten, nur flach wendenden Pflügen in der Arnstadter Wirtschaft und den neuen Tiefkulturpflügen in Rothamsted, mit welchen nach seiner Ansicht die in den obersten Schichten der Ackerkrume entwickelten Bakterienmassen während der Brache mehrmals durch Begraben des größten Teiles vernichtet werden. Hierin sei mit ein Grund für die in Rothamsted ausgebliebene starke Stickstoffsammlung während der Brache zu erblicken. Im Interesse der Stickstoffanreicherung der Kulturböden hält es B. überhaupt für wünschenswert, daß ein tieferes Vergraben der bakterienreichen oberen Bodenschichten vormieden und zur Tiefkultur daher nur solche Pflüge verwendet werden, welche die Ackerkrume nur flach wenden, dagegen den Untergrund tief lockern, ohne ihn mit der Ackerkrume zu vermischen.

(Die von Bippart ausgesprochene Ansicht verdient mit Rücksicht auf das biologische Verhalten der Azotobacter-Arten entschiedene Beachtung und die von ihm mitgeteilten, über sehr lange Zeiträume sich erstreckenden Erntezahlen sprechen eine deutliche Sprache zu Gunsten der Annahme, daß während der Brache eine erhöhte Stickstoffaufnahme im Boden stattfindet. Löhnis hat ebenfalls verschiedentlich (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 98 und 1905. No. 87) den von Pfeiffer und von v. Seelhorst geteilten Anschauungen über die Bedeutung der Brache widersprochen. Mit Rücksicht auf die zahlreichen, z. B. in Droops bekanntem Buche über die Brache zusammengetragenen, für eine gesteigerte Stickstoffsammlung während der Brache sprechenden Erfahrungen und Beobachtungen wird man keineswegs die Richtigkeit der Pfeiffer-v. Seelhorstschen Ansichten als so fest und unumstößlich erwiesen ansehen dürfen, wie diese Forscher es tun. Ref.) Vogel (Bromberg).

**Ulrich**, Welche Vorgänge spielen sich im Ackerboden während der Brachehaltung ab? (Fühlings landw. Ztg. 1906. p. 200.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Verf. schildert die bekannte vorteilhafte Beeinflussung des schweren, bindigen Bodens durch die Brachehaltung als die intensivste und anhaltendste Form der Bodenbearbeitung. Die Ursachen für die günstige Wirkung der Brache auf die Bodenbeschaffenheit und das Pflanzenwachstum liegen auf verschiedenen Gebieten. Zunächst sind es Vorgänge physikalischer Art, welche die Lockerheit des Bodens und damit seine Krümelstruktur, Luftdurchlässigkeit und erhöhte Fähigkeit, Frost oder Hitze eindringen zu lassen, hervorrufen. Im Bracheboden kann eine stärkere Erwärmung während des Sommers, eine tiefere Abkühlung während des Winters eintreten. Auch die Feuchtigkeitsverhältnisse des Brachelandes sind günstiger wie die des bebauten, da, wie schon Wollnys bekannte Forschungen ergaben, ein mit Pflanzen bestandener Boden wesentlich mehr Wasser verdunstet als ein nackter Boden. Die Brache bewirkt daher in trockenen Perioden eine bessere Konservierung der Bodenfeuchtigkeit. Luft, Wärme und Feuchtigkeit werden also in ihren Einwirkungen auf den Boden durch die Brache wesentlich verstärkt, und dieser Umstand übt einen maßgebenden Einfluß aus auf die im Boden sich vollziehenden chemischen und bakteriologischen Vorgänge.

Die Verwitterungserscheinungen verlaufen in einem von Luft und Wasser leicht durchdringbaren Boden mit größerer Energie, die Zersetzung von Silikaten durch kohlensäurehaltiges Wasser geht in erhöhtem Maße von statten, und hierdurch werden wichtige Pflanzennährstoffe, wie Kalium und Calcium, in lösliche Form übergeführt. In gleicher Richtung sind allerdings auch die Pflanzenwurzeln aufschließend im Boden tätig.

Der ungehinderte Luftzutritt im gebrachten Lande bewirkt auch eine kräftige Zersetzung der im Boden enthaltenen organischen Stoffe, begünstigt also die Vorgänge der Verwesung, Humusbildung, Nitrifikation u. s. w., und hiermit wiederum den Eintritt der erwünschten Bodengare.

Im Anschluß an diese Darlegungen erwähnt Verf. die bekannten Untersuchungen Carons und anderer über die bakteriologischen Vorgänge im Bracheboden. In Uebereinstimmung mit den meisten, dieses Gebiet bearbeitenden Forschern hält auch Verf. die Frage für noch unentschieden, ob bei der Brache die Anreicherung des Bodens mit aufnehmbarem Stickstoff auf der Ueberführung des organischen Stickstoffes der Tier- und Pflanzenreste in anorganische Form oder auf einer Assimilation des freien Stickstoffes der Atmosphäre beruht, bezw. welcher dieser Vorgänge die größere Bedeutung beansprucht.

Vogel (Bromberg).

**Kadgien,** Die chemischen und physikalischen Veränderungen des Bodens bei der Brache mit Berücksichtigung der Frage, ob bei derselben ein Raubbau stattfindet. (Illustr. landw. Ztg. 1906. No. 89, 90, 91.)

Verf. hebt die Bedeutung der Brachebearbeitung für die Erzielung einer guten Bodengare, für die Aufschließung unlöslicher Bodenmineralien und für die Unkrautvertilgung hervor. Die bekannten Kulturversuche in Rothamsted, bei welchen hintereinander seit 50 Jahren Weizen auf derselben Fläche ohne irgendwelche Düngung, sondern nur mit eingeschalteter Brache angebaut wird, bieten ein charakteristisches Beispiel dafür, daß der Ersatz der Mineralstoffe nur infolge der Verwitterung eingetreten sein kann. Auch die Caronschen Versuche in Ellenbach

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sprechen für eine energische Förderung der Verwitterung durch die Brache. In der richtig behandelten Brache vollziehen sich auch die Vorgänge der Verwesung, d. h. der bei Luftzutritt vor sich gehenden Zersetzung organischer Stoffe energischer als in mit Pflanzen bestandenem Ackerland. „Dadurch muß direkt und indirekt eine Bereicherung des Bodens an assimilierbaren Nährstoffen stattfinden", direkt durch Bildung von Ammoniak und löslichen Mineralstoffen, indirekt durch Aufschließung mineralischer Bodenbestandteile durch die reichlich gebildete Kohlensäure.

Die moderne Brachebearbeitung soll durch möglichst günstige Gestaltung der Wärme-, Feuchtigkeits- und Durchlüftungsverhältnisse des Bodens die Bodenorganismen zu intensiver Tätigkeit anregen und dadurch dem Boden die erwünschte Gare verleihen. Die hierher gehörigen Maßnahmen werden unterstützt durch Zufuhr organischer Stoffe, wie Stalldünger, Gründünger, Kompost und vor allen Dingen der während der Brache aufgehenden Unkräuter. Verf. weist darauf hin, daß wahrscheinlich durch den bei der Brache stattfindenden beschleunigten Stickstoffumsatz auch das Nährstoffkapital des Bodens in erheblichem Maße in Anspruch genommen wird, er stellt sich jedoch nicht auf den von Pfeiffer vertretenen Standpunkt, wonach bei Brache unter allen Umständen ein forcierter Raubbau an Stickstoff betrieben werde, sondern schließt sich den von Löhnis gegen die Pfeifferschen Ausführungen geäußerten Bedenken an. Die Brache wird sich auf den dazu geeigneten Böden stets dann als ein gutes Kulturverfahren bewähren, wenn für einen Ersatz der aufgeschlossenen und durch Sickerwässer oder durch andere Ursachen in Verlust geratenen Nährstoffe gesorgt wird. Ein eigentlicher Raubbau an Stickstoff wird nur dann stattfinden, wenn wir eine Stickstoffdüngung vollständig unterlassen.

Verf. betont im weiteren Verlauf seiner Darstellung die vorzügliche, durch keine andere Art der Bodenkultur erreichbare Wirkung der Brache auf die physikalische Beschaffenheit des Bodens. Sie führt zu der in der Praxis so erwünschten Krümelstruktur und Gare, der Boden wird von Wurzeln und Unkraut gereinigt und die untergepflügten Unkräuter bereichern das Brachland an organischen Stoffen; auch der Feuchtigkeitsgehalt des gebrachten Landes ist stets höher als der des mit Pflanzen bestandenen. Verf. gibt der Ueberzeugung Ausdruck, daß die Brache in vielen Fällen als eine wertvolle wirtschaftliche Maßnahme zu bezeichnen ist, obwohl während derselben nachgewiesenermaßen erhebliche Mengen von Nährstoffen aus dem Boden durch Sickerwässer ausgewaschen werden, und obwohl durch die Schwarzbrache natürlich der Ausfall einer Ernte bedingt wird. Die Brache deckt diesen Ernteausfall hinlänglich durch die Sicherheit und Steigerung der darauf folgenden Ernten. Daher wird diese Kulturmethode am Platze sein in hochgelegenen Gegenden mit rauhem Klima, mit schweren, kalten Böden, wo die Aussaat im Frühjahr spät vorgenommen werden muß und auch die Ernte sich im Herbst nicht zu lange verzögern darf, wo die Verkehrs- und Absatzverhältnisse schwierige sind und wo auch die Arbeiterverhältnisse ungünstig liegen, kurz wo auf schwerem Boden extensiv gewirtschaftet werden muß.

Vogel (Bromberg).

**Hiltner** und **Kintzel**, Ueber die Ursachen und die Beseitigung der Keimungshemmungen bei verschiedenen praktisch wichtigeren Samenarten. (Naturw. Ztschr. für Land- u. Forstwirtschaft. 1906. p. 36, 193.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Untersuchungen der Verff. beschäftigen sich vornehmlich mit solchen Samen, die an sich zwar die volle Keimfähigkeit besitzen, deren Keimung aber trotzdem infolge irgend eines eventuell zu beseitigenden Hindernisses nicht erfolgen kann. Sie beginnen mit dem Studium der Keimungshemmungen bei Koniferensamen. Bei den unter Anwendung verschiedener Keimmedien durchgeführten Keimversuchen mit Fichtensamen ergab sich, daß in der Regel bereits am 14. Tage fast alle überhaupt keimfähigen Samen auch wirklich ausgekeimt sind. Es kann daher bei diesen Samen von einer Keimungshemmung im angegebenen Sinne höchstens bei ganz vereinzelten Exemplaren die Rede sein. Bei den Samen der Kiefer lagen die Verhältnisse anders. Hier war die Keimung am 14. Tage noch nicht beendet, es wurde sogar wiederholt gefunden, daß selbst nach 42-tägiger Dauer des Keimversuches — der nach den Vorschriften des Verbandes deutscher Versuchsstationen einzuhaltenden Keimdauer — noch vereinzelte nicht ausgekeimte Körner vorhanden waren, die sich beim Durchschneiden als noch frisch erwiesen. Praktisch ist es nun von großer Bedeutung, die Keimzeiten möglichst abzukürzen, und die dahin zielenden Versuche der Verff. ergaben, daß bereits am 14. Tage die voraussichtliche Keimfähigkeit festgestellt werden kann, indem man die an diesem Tage noch nicht gekeimten, aber noch frischen Samen dem Keimprozent hinzurechnet. Das ganze Verhalten der Kiefernsamen ließ darauf schließen, daß bei ihnen nicht selten Keimungshemmungen vorliegen. Diese wurden zunächst durch wiederholtes Eintauchen der Samen in Wasser von 60—65° zu beseitigen gesucht. Es trat dadurch zweifellos in mehreren Fällen eine Steigerung der Keimungsschnelligkeit ein. Eine bedeutendere Erhöhung der Keimungsenergie konnte durch Abbeizen der Schalen mit konzentrierter Schwefelsäure erzielt werden. In besonders auffälliger Weise liegen Keimungshemmungen bei den Samen der Weymouthskiefer, Pinus Strobus, vor, die selbst nach 42-tägiger Keimdauer noch nicht ausgekeimt haben. Bei diesen Samen war daher sowohl die Warmwasserbehandlung wie auch die Beizung mit Schwefelsäure von viel ausgesprochenerer Wirkung. Durch letztere konnte nicht nur die Keimungsschnelligkeit, sondern auch die Keimfähigkeit an sich gesteigert werden. Bei einigen Versuchen mit Pinus Cembra und Pinus Peuce gelang es durch entsprechende Schwefelsäurebehandlung, alle überhaupt keimfähigen Samen zum Auskeimen zu bringen, während von den unbehandelten nicht ein einziges Korn gekeimt war.

Die günstige Wirkung der Abbeizung beruht auf einer Verringerung der Schalendicke und dem dadurch ermöglichten besseren Luftzutritt zu dem Samenkorn. Hiltner konnte die große Bedeutung des ungehinderten Luftzutrittes experimentell dadurch beweisen, daß er Samen verschiedener Art mit Vaseline überzog und ungefähr nach 1 Jahr auf Keimfähigkeit prüfte. Es ergab sich, daß der Vaselineüberzug bei den glattschaligen Leguminosensamen nur eine geringfügige Verzögerung der Keimung bewirkt hatte, während er bei den Fichten- und Kiefernsamen die Keimung vollständig verhinderte. Nach Entfernung der Vaseline mit Benzin ging der Keimungsprozeß ungehemmt wieder vor sich.

Die Verff. gehen zur Besprechung der Unquellbarkeit (Hartschaligkeit) der Leguminosensamen über und kommen bei dieser Gelegenheit ausführlich auf frühere Untersuchungen Hiltners (siehe diese Zeitschr. Bd. X. p. 100) zu sprechen. Es wird darauf hingewiesen, daß man die Hartschaligkeit der Leguminosensamen durch trockene Hitze von 30 bis

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

40° C und durch Trocknen über Schwefelsäure erhöhen kann. Daraus folgt, daß die Samen auch bei trockener Aufbewahrung an Hartschaligkeit zunehmen können. Da unter bestimmten Umständen auch ein Rückgang der Hartschaligkeit erfolgen kann, so ergibt sich die für die Samenkontrolle wichtige Tatsache, daß bestimmte Samen in verhältnismäßig kurzer Zeit erhebliche Veränderungen bezüglich ihrer Hartschaligkeit erleiden können. Die Verff. halten die in Schnitten hartschaliger Samen erkennbare lichtbrechende Schicht der Palisadenzellen für die eigentliche Ursache der Hartschaligkeit. Diese Schicht verhindert die Abgabe, aber auch die Aufnahme von Wasser und schützt die Samen lange Zeit vor Austrocknung und anderen Veränderungen. Der Grad der Hartschaligkeit kann ein ganz verschiedener sein, es gibt alle Uebergänge von fast unquellbaren Samen zu solchen von nur geringer Hartschaligkeit. In der Keimfähigkeit können die hartschaligen Samen nicht selten die leicht quellenden übertreffen, ein Umstand, der ebenfalls bei der Samenkontrolle von Wichtigkeit ist. Die Verff. gehen alsdann näher auf die mechanischen und chemischen Mittel zur Beseitigung der Hartschaligkeit ein, besprechen eingehender das namentlich bei Kleesämereien wichtige Ritzverfahren und empfehlen für großkörnige Samen als wirksamstes Mittel die Beizung mit konzentrierter Schwefelsäure.

Die Arbeit ist noch nicht vollendet, weitere Publikationen sind in Aussicht gestellt. Vogel (Bromberg).

**Poirault, G.,** Sur une Chytridinée parasite du Muscari comosum. (Bull. mensuel de l'assoc. française pour l'avanc. des sci. Paris 1905. p. 325—326.)

Diese parasitische Chytridinee, die Verf. der Gattung Physoderma einordnet, bildet auf den Blättern von Muscari comosum, von den Inseln von Lerins, weinrote längliche Flecke, die in ihrer Mitte leicht vertieft sind. Der intracelluläre Parasit bildet sehr schnell rundliche Sporangien, $24 \times 18\ \mu$ groß, braun, 1—10 pro Zelle. Sein Mycel durchbricht die Wand der Zellen, dringt in den Kern ein und erzeugt sehr deutliche Kernhypertrophie und Fragmentationen.

Es ist Verf. noch nicht gelungen, die Sporangien zum Auskeimen zu bringen, auch nicht bei Benutzung der reizenden Eigenschaften gewisser chemischer Substanzen. Houard (Paris).

**Pinoy,** Rôle des bactéries dans le développement du Plasmodiophora Brassicae. (Compt. rend. soc. de biol. Paris. T. LVIII. 1905. p. 1010—1012.)

Die Biologie der Plasmodiophora Brassicae ist bis jetzt erst wenig untersucht worden. Verf. wurde durch seine früheren Arbeiten über die Myxomyceten darauf hingewiesen, zu untersuchen, ob die Bakterien in ihrer Entwickelung nicht eine große Rolle spielen. Bei Härtung von Probestückchen nach Flemming und Färbung nach der Methode von Borrel (Tannin und Thionin) konnte er in einzelnen Zellen Bakterienanhäufungen sehen, die er dann in den großen Tumoren bei Brassica sinensis wiederfinden konnte. Was für eine Rolle spielen nun diese in die Kohlwurzeln durch die Plasmodiophora eingebrachten Bakterien? Nach aseptischen Kulturen auf Kohlrüben, die Verf. angelegt hat, tragen diese Bakterien zur Fäulnis der Kohlhernie bei, wenn die Verhältnisse zu ihrer Vermehrung günstig werden. Houard (Paris).

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Vuillemin, P.,** La castration femelle et l'androgénie parasitaires du Lonicera Periclymenum. (Bull. mensuel des séances de la soc. des sciences de Nancy. 1905. p. 19. 2 Taf.)

Zahlreiche Autoren (Guéguen, Heim, Morren, Cavara, Daguillon) haben die teratologischen Anomalieen beschrieben, die die Blüten des gemeinen Geißblattes (Lonicera Periclymenum) unter dem Einfluß einer Aphidide, dem Rhopalosiphon Xylostei Schrank, zeigen. Aber bisher hatte man die Natur und die Ausdehnung der der Blattlaus zugeschriebenen Modifikationen noch wenig genau gewürdigt. In einem sehr eingehenden Aufsatz hat Verf. seine genauen Beobachtungen über die Abweichungen von dem gewöhnlichen Bau der Blüte auf Grund der Untersuchungen an 24 Blüten (I—XXIV) niedergelegt, die von drei Zweigen gesammelt worden sind. Die deutlichste Störung in der Ernährung gibt sich in der Entwickelung der Geschlechtsorgane durch zwei in die Augen springende Punkte kund:

1) Kastration der weiblichen Organe durch Unterdrückung des unteren Ovariums; diese Kastration ist sehr häufig mit einem gewissen Grade von Zunahme des von dem Stempel nicht erschöpften Receptakels vergesellschaftet. Nachdem es einen dritten Blütenscheitel hervorgebracht hat, der sich meist zu Staubfäden ausbildet, fährt das Receptakel fort, Triebe zu bilden, sei es ein fünfter und sechster Blütenscheitel, sei es ein unregelmäßiger, spiraliger Blatttrieb, aus dem Staubfäden oder Blütenblätter bis zu vollkommener Erschöpfung werden.

2) Deutliche Androgenie in den innersten Blatttrieben, die die durch Unterdrückung der Fruchtbildung freigewordenen Stoffe bekommen; diese Androgenie vergesellschaftet sich oft mit einer Rückbildung der männlichen Organe in dem normalen Androceum. Houard (Paris).

**Schikorra, Georg,** Fusarium-Krankheiten der Leguminosen. [Inaug.-Diss.] 4°. 34 p. Berlin 1906.

Verf. zeichnet ein deutliches Bild der durch Fusarien hervorgerufenen Welkekrankheiten der Leguminosen, insbesondere der St. Johanniskrankheit der Erbsen.

Sieht man sich nach dem Ausgangspunkt der Felderkrankung um, so kann man wohl mit Recht annehmen, daß der in Frage kommende Erreger mehr oder weniger verbreitet überall vorhanden ist. Er vermag auf den verschiedensten Substraten als Saprophyt zu leben. Seine Anpassung an die saprophytische Lebensweise ist eine besonders weitgehende; er hat in hohem Maße das Vermögen, Cellulose zu zerstören und auf den verschiedensten toten Substraten seine mannigfach gestalteten Fruchtformen zu entwickeln.

Bei seiner energischen Zerstörung vegetabilischer Substanz kann er auf und im Erdboden leben, wenn er einmal durch abgefallene kranke Hülsen oder durch stehengebliebene und verwesende Stoppeln erkrankter Pflanzen auf ihn gelangt ist. Von hier aus ist der Weg in die Pflanze dann gegeben.

Mit dem Augenblick, wo es ihm gelingt, durch Wundstellen in Leguminosenpflanzen zu gelangen, beginnt er seine parasitische Lebensweise; Schikorra schildert ausführlich, mit welchem verderblichen Erfolg!

Zwar ist er in seinem Fortkommen sehr von Witterungsverhältnissen abhängig, denn er kann, wie gezeigt wird, nur bei genügender Wärme und gleichzeitiger ausreichender Feuchtigkeit immer wieder zu



Generated on 2019-09-21 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Neuinfektionen Anlaß geben. Aber diese Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen sollte in der landwirtschaftlichen Praxis nicht dazu führen, die Krankheit für nebensächlich zu halten; denn wenn man das Beispiel Hollands, wo die Erbsenkrankheit in den letzten Jahren stetig mehr an Ausbreitung gewonnen hat, heranzieht, so muß man eine so intensive Anreicherung des Bodens an Fusarium-Keimen für möglich halten, daß die Krankheit zu einer stehenden Erscheinung bei uns werden könnte.

Der falschen Anschauung aber von der bloß saprophytischen Lebensweise aller Fusarien Einhalt zu tun und an einem neuen, phytopathologisch so wichtigen Beispiel den Parasitismus eines Vertreters der Gattung Fusarium dargelegt zu haben, ist ein Verdienst des Verf.

E. Roth (Halle a. S.).

**Viala, P.** et **Pacottet, P.,** Nouvelles recherches sur l'anthracnose de la vigne. II: Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du Manginia ampelina. (Revue de viticulture. 1905—1906.)

— —, Sur les levures de champignons à périthèces (Gloeosporium). (Comptes rendus de l'acad. des sc. 19. février 1906.)

— —, Sur les kystes des Gloeosporium et sur leur rôle dans l'origine des levures. (Ibid. 26. févier 1906.)

Diejenige Krankheit der Rebe, welche Anthraknose genannt wird, wird durch Manginia ampelina hervorgerufen. Während man früher bei diesem Pilze nur zwei Entwickelungsformen, Mycel und Konidien, kannte, teilen die Verff. jetzt mit, daß sie eine ganze Reihe solcher gefunden haben, nämlich Makrosporen, Spermogonien, Pykniden, Sklerotien und Hefezellen, welch letztere in zuckerhaltigen Flüssigkeiten 1 Proz. Alkohol bilden; ferner auch Dauerzellen, Clamydosporen und Cysten.

Die Verff. geben an, daß diejenigen Hefezellen, welche sie bei dem genannten Pilze gefunden haben, im stande seien, Endosporen bilden zu können, mit anderen Worten in morphologischer Beziehung sich ganz wie Saccharomyces zu verhalten. Ferner wird mitgeteilt, daß es ihnen gelungen sei, die genannten Hefezellen wieder zurück zu der Mycelform zu bringen, obzwar auf eine sehr langwierige und schwierige Weise.

Auch bei einer anderen Art, Gloeosporium nervisequum, wollen die Verff. dieselben Entwickelungsformen, wie obengenannt, bei Manginia ampelina gefunden haben. Hier ist die Bildung von Endosporen in den Hefezellen noch auffälliger, nachdem Gl. nervisequum auch Perithecien mit Asci besitzt. Es sollen sich also hier zwei Sorten von Endosporen finden!

Endlich meinen die Verff., daß die Cysten die Uebergangsform von Fadenpilz zur Hefe und daß das Problem: die Abstammung der wilden Hefearten, durch ihre obengenannten Untersuchungen gelöst sei.

Wie man sehen wird, ist hier also die Rede von dem Ursprung der Hefe. Trotzdem Ref. sich an den Herrn Verf. gewendet hat mit der Bitte, Material zur Nachprüfung zu bekommen, war es ihm bisher nicht möglich, solches zu erhalten, was in hohem Grade zu bedauern ist. Bis auf weiteres muß man sich skeptisch gegenüber der Richtigkeit der Mitteilung von den beschriebenen Entwickelungsreihen bei den genannten zwei Arten verhalten. Besonders ist das Vorkommen der zwei Sorten von Endosporen bei Gl. nervisequum in hohem Grade unwahrscheinlich.

Klöcker (Kopenhagen).

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Ravaz, L.** et **Roos, L.,** Sur le rougeot de la vigne. (Compt. rend. de l'acad. des sciences de Paris. T. CXLI. 1905. p. 366—367.)

Die Anhäufungen von Farbstoffen in den Blättern des Rebstockes, die man als „Röte" bezeichnet, wurden früher von Prillieux und Delacroix der Einwirkung eines Parasiten zugeschrieben. Nach Verff., die darin nur die Rückwirkung traumatischer Einflüsse oder von Aenderungen der Lebensbedingungen sehen, die zufällig eintreten, ist das nicht zutreffend. Ein Schnitt in einen Blattnerven zum Beispiel hat das Auftreten der Röte an der ganzen oberhalb des Einschnittes gelegenen Randpartie zur Folge.

Eine Analyse der gesunden Blätter und Stengel und derselben kranken Organe ergibt in den letzteren eine größere Menge Zucker und Stärke, aber andererseits einen sehr deutlichen Mangel an Kalk und Magnesia. Diese Tatsachen scheinen die Theorie Boehms und anderer Autoren über die Auflösung und Wanderung der Kohlehydrate zu stützen.

Houard (Paris).

**Ravaz, L.,** Sur la cause du dépérissement des vignes de la Tunisie, de l'Algérie et du Midi de la France. (Compt. rend. de l'acad. d. sciences de Paris. T. CXLI. 1905. p. 58—59.)

Die Rebstöcke in Südfrankreich und Algier sind dieses Jahr in zahlreichen Fällen zu Grunde gegangen, während sie im vorhergehenden Jahre sehr schön waren. Verf. schiebt diesen Untergang auf einen zu starken Fruchtertrag, der die Pflanzen erschöpft hat, auf eine „Ueberfruchtung". Die Gewebe sind dabei leer, der Stärke beraubt, und haben einen geschrumpften oder gar keinen Kern mehr.

Abhilfe kann geschafft werden durch kurzes Verschneiden und reichliche Düngung nebst, soweit möglich, häufigen Berieselungen während des Sommers.

Houard (Paris).

**Molliard, M.,** Structure des végétaux développés à la lumière, sans gaz carbonique, en présence de matières organiques. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. Paris. T. CXLII. 1906. p. 49—52.)

Früher hat Verf. schon gezeigt, wie die höheren, chlorophyllführenden Pflanzen sich in einer bestimmten Atmosphäre entwickeln, wenn man ihren Wurzeln verschiedene organische Substanzen zur Verfügung stellt (z. B. eine Salzlösung, der man 5 Proz. Glukose und 2 Proz. Asparagin zusetzt). Unter diesen Wachstumsbedingungen erwerben die Pflanzen eine gewisse Menge spezieller anatomischer Eigenschaften, aber abgesehen davon entwickelt sich ein höchst interessantes Bild an den Rindenzellen der hypokotylen Achse (beim Radieschen): während die Rindenzellen an Größe zunehmen, teilt sich zu gleicher Zeit ihr Kern sehr häufig in 2, 3 oder 4 Teile, ohne daß er sich mit entsprechenden Membranen umgibt. Ferner verfallen die Kerne einer Hypertrophie und Degeneration, die in allen Stücken jener ähnlich ist, die bei entweder der Wärme (Prillieux) oder der Einwirkung von Parasiten (Zoocecidien) ausgesetzten Zellen beschrieben worden ist. Wärme und Parasiten scheinen also nur dahin zu wirken, daß sie in der Zelle Veränderungen in den Ernährungsvorgängen herbeiführen, die den experimentell erhaltenen gleichwertig sind.

Houard (Paris).



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Molliard, M.,** Nouveau cas de virescence florale produite par un parasite localisé dans le collet. (Bull. de la société botanique de France. Paris. T. LIII. 1906. p. 50—52.)

Die Fälle von Vergrünung der Blüten sind zahlreich bei den Cruciferen und bedingt durch Schädigungen durch Blattläuse oder Phytoptiden. Indes die 3 gelbgewordenen Stengel von Sinapis arvensis zeigen keine Spuren von Parasiten in den Blüten. Dagegen saß bei ihnen in der Halsgegend je eine wahrscheinlich zu einer Curculionide gehörige Larve innerhalb einer 1—2 cm langen Aushöhlung in der Achse. Verf. meint, daß die von dem Insekt ausgegrabene Höhle erheblich den Stoffwechsel zwischen den Luft- und den Erdorganen der Pflanze stört und die Ernährungsbilanz ins Wanken bringt, was das Gelbwerden der Blüten mit sich zieht. Wenn die in der Ernährung angerichtete Unordnung die unmittelbare Veranlassung zu so einem teratologischen Zufalle ist, dann wäre es vielleicht möglich, systematisch gleiche Umbildungen durch eine entsprechende künstliche Ernährung zu erzielen.

Houard (Paris).

**Laurent, J.,** Les facteurs de la structure chez les végétaux. (Bull. de la soc. études sciences naturelles. Reims. 1905. 38 p.)

Angesichts der zahlreichen Tatsachen, die die experimentelle Anatomie liefert, sucht Verf. die vielfachen, anscheinend voneinander unabhängigen Beobachtungen durch eine umfassende Theorie zu verbinden. Er gruppiert die Erscheinungen in 7 Gruppen: 1) Einfluß der Turgeszenz auf das Wachstum. 2) Einfluß der Turgeszenz auf die Form der Zellen. 3) Spezifische Wirkung wirksamer Substanzen. 4) Einfluß von Mineralsalzen auf die Funktion des Chlorophylls. 5) Einfluß des Wassers und der kohlenstoffhaltigen Verbindungen auf die Holzbildung (Kulturen in der Dunkelheit und in dauernder Belichtung). 6) Einfluß der Temperatur auf den Gasstoffwechsel. 7) Einfluß der Konzentration auf die Zellteilungen.

Verf. schließt, daß die inneren Momente, die die Variation bei den Pflanzen bedingen, auf zwei zurückgeführt werden können: a) die Aenderungen des osmotischen Druckes, die zu einer Aenderung der Turgeszenz führen; b) die spezifische Natur der zu osmotischen Wirkungen geeigneten Substanzen.

Diese Momente sind es auch, die bei der Bildung von Zoocecidien mitwirken müssen, und Verf. erinnert daran, daß die abnormen Bildungen, die Houard bei Sedum Telephium (eine durch Nanophyes Telephii hervorgerufene Galle) beobachtet hat, denen analog sind, die Laurent in Glycerinkulturen hat erzielen können.

Houard (Paris).

**Houard, C.,** Cueillette cécidologique dans le Bassin de la Garonne. (Marcellia, Riv. int. di Cecidologia, Avellino, T. IV. 1905. p. 139—143.)

In diesem kurzen Aufsatze berichtet Verf. über seine Reisebeobachtungen während eines kurzen Aufenthaltes in Südwestfrankreich 1902. Nachdem er auf die schönen Arbeiten von Dufour und Perris über dasselbe Gebiet hingewiesen hat, zählt er einige noch unbeschriebene Gallen der Populus angulata und von Bäumen des botanischen Gartens in Toulouse auf. Autoreferat.

**Houard, C.,** Les diptérocécidies des Genévriers. (Bull. mensuel de l'Assoc. française pour l'avanc. des sci. Paris. 1905. p. 326.)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verf. erinnert an seine neuesten Arbeiten über die Anatomie der Dipterocecidien des Wachholders und bemerkt, daß der Erreger der Gallen an Juniperus Oxycedrus kürzlich von J. da Silva Tavares unter dem Namen Rhopalomyia Valerii beschrieben worden ist. Er weist auch darauf hin, daß alle anderen Cecidiozoen des Wachholders einer anderen Dipterengattung angehören, nämlich der Gattung Oligotrophus (Gallen des O. juniperinus, des O. Panteli, des O. Sabinae). Die Cecidiozoen mehrerer europäischer Wachholdergallen sind noch unbekannt, ebenso wie die des Juniperus excelsa in Kleinasien. Autoreferat.

**Houard, C.,** Les galles de l'Afrique occidentale française. II. Diptérocécidie foliaire de Ficus Vogeli Miquel. (Marcellia, Riv. internat. di Cecidologia, Avellino. T. IV. 1905. p. 106—112. 10 Fig.)

Die Blätter dieses großen afrikanischen Feigenbaumes („Dob mâle") zeigen häufig kleine, sehr zahlreiche, pustelartige Gallen, die auf beiden Flächen des Randes hervorspringen. Diese Gallen sind regelmäßig rund und messen 2—6 mm im Durchmesser. Sie sind bisweilen einzelnstehend, aber meistens eine mit der anderen verlötet. Im Innern findet sich eine kleine Larvenhöhle, die eine Dipterenlarve enthält, deren Entwickelung jedoch nicht gelang.

Eine sehr genaue anatomische Untersuchung der Galle, die Verf. unternommen hat, ergibt, daß die Hypertrophie des Feigenblattrandes beruht auf: a) einer starken Entwickelung der tieferen Gegend der oberen Epidermis, deren Zellen sich verlängern, dann quer lagern und in ihrem Innern atrophische Cystolithen enthalten; b) der Vermehrung und der Hypertrophie der Elemente des Palissadengewebes; c) der Hypertrophie des Lakunengewebes; d) der Sklerose desselben Gewebes, mit Ausnahme der unmittelbaren Umgebung der Larvenhöhle; e) der Umbildung und Ausdehnung der Bastholzbündel der Nerven.

Die Arbeit schließt mit einem Vergleich zwischen dieser Blattdipterocecidie und den Stengeldipterocecidien, deren Bau viel regelmäßiger ist. Zehn sehr deutliche Abbildungen vervollständigen die Beschreibung. Autoreferat.

**Houard, C.,** Sur une diptérocécidie nouvelle du Daphne Laureola L. (Marcellia, Avellino. T. IV. 1905. p. 59—64. 8 Fig.)

Mehrere Arten der Gattung Daphne (striata, Mezereum, Cneorum) zeigen am Ende ihrer Triebe spindelförmige Cecidien, die zweifellos alle von den Larven der Perrisia daphnes herrühren.

Eine analoge Mißbildung ist vom Verf. bei der Daphne laureola beobachtet worden, wo sie eine Länge bis zu 70 mm erreichen kann. Die von Parasiten heimgesuchten Blätter bleiben hell, von gelblicher Färbung, als Folge eines Stillstandes in der Differenzierung ihrer inneren Gewebe und der Bildung eines homogenen, dichten Gewebes ohne Lücken und arm an Chlorophyll. Die Epidermiszellen der Blätter haben eine dünne, nicht verholzte und geradwandige Cuticula. Sie sind der Sitz einer intensiven Bildung der blasenziehenden und scharfen Prinzipe (einer dicken, gelbgrünen, harzigen Masse, die mit dem Daphnin verbunden ist), die normalerweise bei fast allen Arten der Gattung Daphne vorkommen. Diese Prinzipe, die sich leicht mit Pottasche lebhaft gelb färben lassen, bilden große vielzellige Flecke auf der Oberfläche der von den Parasiten heimgesuchten Blätter. Autoreferat.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Houard, C.,** Sur l'anatomie de la galle de l'involucre des Euphorbes. (Revue générale de botanique. Paris. T. XVIII. 1906. p. 67—81. Mit 30 Figuren.)

In dieser mit zahlreichen Abbildungen versehenen Abhandlung untersucht Verf. die seltsamen Cecidien, die eine Diptere aus der Familie der Cecidomyiden, die Perrisia capsulae Kieff., auf Kosten der Blütentriebe von Euphorbia Cyparissias, E. Pithyusa und E. Esula erzeugt.

Die Galle der Euphorbia Cyparissias, die am eingehendsten untersucht ist, nimmt die Form einer regelmäßigen Flasche von 8 mm Höhe und 3 mm Durchmesser in der Basalgegend an, wo sie angeschwollen ist; der Hals der Flasche verjüngt sich gleichmäßig und trägt an seinem Ende vier gelbliche, unregelmäßig geformte Massen, die an die vier Nektarien erinnern, die man normalerweise am oberen Ende der Blütenscheide findet: die Galle rührt also von einer Hypertrophie dieser Scheide her. Die anatomische Struktur der dicken Wand dieser Scheide besteht aus einer sklerotischen Schutzschicht und einer hauptsächlich auf Kosten der unter der inneren Epidermis liegenden Zellen gebildeten Schicht (Nährgewebe).

Im Innern dieser Galle findet sich die axiale, wenig entwickelte weibliche Blüte auf einem dicken Stiele, am Grunde umgeben von zahlreichen männlichen Blüten mit keulenförmig geschwollenen Stengeln und in verschiedenen Entwickelungsstadien. Inmitten dieser mißgebildeten Blüten leben die lebhaft rot gefärbten Larven der Perrisia. Diese Larven haben bei den Blüten sehr hübsche Erscheinungen einer indirekten parasitischen Kastration zur Folge, die in Atrophie der Pollensäcke bei den männlichen und Fehlen einer Differenzierung der Eizellen bei den weiblichen Blüten besteht. In gleicher Weise kommt es zu einem Stillstand in der Differenzierung der Wand der Frucht, deren mechanische Schichten wenig entwickelt sind und die keine Sprunglinie zeigt.

Die Scheide von Euphorbia Pithyusa gibt das Material ab zu einer Cecidie in Form eines langen Hornes, das sich von der Basis bis zur Spitze regelmäßig verjüngt und dessen Wand den soeben beschriebenen ähnliche histologische Merkmale aufweist; die Kastration der Fortpflanzungsorgane ist vollständig. Autoreferat.

**Vosseler, J.,** Die bunte Stinkschrecke. (Der Pflanzer, Ratgeber f. trop. Landwirtsch. Bd. II. 1906. No. 5. p. 65—68.)

—, Ein Schädling von Ficus elastica. (l. c. p. 72—74.)

Die bunte Stinkschrecke Zonocerus elegans Thimb. ist ein Schädling der Kaffeepflanzungen, welcher im ganzen Küstengebiet Deutsch-Ostafrikas, sowie entlang der Karawanenstraße nach Mombo auftritt. Diese Heuschrecke hat eine auffallende, bunte, hauptsächlich aus Gelb, Weiß und Schwarz bestehende Färbung, so daß sie von den sie etwa verfolgenden Tieren sehr leicht gefunden werden muß. Sie besitzt jedoch in der Fähigkeit, zwischen dem zweiten und dritten Hinterleibsring eine klare, widerwärtig riechende Flüssigkeit abzusondern, ein wirksames Verteidigungsmittel; diesen Saft spritzt sie mit großer Vehemenz in der Richtung des Angriffes von sich und wird daher von Eidechsen und Vögeln verschmäht. Die Stinkschrecken nähren sich von allen möglichen Pflanzen, konzentrieren sich aber, wenn die Kaffeeplantagen von Unkraut gesäubert worden sind, mangels jeder anderen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nahrung auf den Kaffee. Obwohl höchstens 5—6 Exemplare an einem Baume gleichzeitig beobachtet werden, so fällt doch der an den Blättern, Blüten und Früchten angerichtete Schaden bald auf. Als Gegenmittel empfiehlt Verf. das Ablesen der fast erwachsenen Tiere nach einer Reinigung der Plantage von Unkraut, und zwar im Dezember während der Nachernte; man erhält dann nahezu ausgewachsene Tiere, deren Flügel aber noch nicht entwickelt, und die noch nicht fortpflanzungsfähig sind und nun gefangen werden, bevor sie Eier ablegen können. Es könnte so eine Generation reifender Tiere nahezu ausgerottet und dadurch die Pflanzung mindestens für einige Jahre von den Tieren befreit werden. Die Stinkschrecke ist auch als Baumwollschädling gemeldet worden.

Eine andere Heuschrecke, Mataeus orientalis Karsch, zerfasert die Blätter, bisweilen auch die Zweigspitzen junger Gummibäume. Die Ränder der Wunde sind von unregelmäßig rauher Beschaffenheit, meist zerfasert und mit Tropfen ausgetretenen Milchsaftes besetzt. Der Schädling besitzt blattnachahmende Vorderflügel und glasige Hinterflügel. Seine Zerstörungen erstrecken sich auch auf einzelne ganze Zweige, da er seine Eier in lebendes Holz absetzt, wobei er das harte Gewebe mit dem Legestachel auf eine Länge von 5—8 cm zersplittert. In die Ritzen werden die Eier abgelegt und der betreffende Zweig vertrocknet leicht. Diese Zerstörungen vollziehen sich vorwiegend, möglicherweise ausschließlich, bei Nacht. Bekämpfung: Absammeln der Tiere in der Morgenfrühe und Vernichtung der Eier durch Abschneiden und Verbrennen des an einer schwachen Verdickung an der Stelle der oben erwähnten Verwundung erkennbaren Zweiges. K. Friederichs (Tübingen).

**Maxwell-Lefroy,** The Bombay locust (Acridium succinctum Linn.) A report on the investigations of 1903—1904. (Mem. Depart. Agric. India. 1906.)

In monographischer Form liefert Verf. in der vorliegenden Abhandlung eine detaillierte, durch zahlreiche Abbildungen erläuterte Beschreibung des indischen „Heuschreckenjahres 1903/04 und eine Schilderung der Bombay-Heuschrecke, ihres Lebens und der Maßregeln zur Abwendung des durch sie verursachten Schadens. Es kann hier nur der Grundriß der interessanten Arbeit kurz wiedergegeben werden und sei wegen Einzelheiten auf das Original verwiesen.

Teil I behandelt die Entwickelung der Heuschreckenschwärme und ihr Verhalten im Laufe des Jahres 1903/04 an der Hand einer Teilkarte von Indien. Von der zeitlichen Entwickelung der Schwärme gibt folgende Tabelle ein gutes Bild:

| | |
|---|---|
| Auftreten geflügelter Heuschrecken und Einfall in die Felder | 1. bis 20. Oktober 1903 |
| Wanderung „ „ | 20. Oktober bis 30. Novbr. 1903 |
| Verweilen „ „ in den Wäldern | 1. Dez. 1903 bis 20. März 1904 |
| Wanderung „ „ | 20. März bis 20. Mai 1904 |
| Zerstreuung der Schwärme und die Zeit, in welcher „die Heuschrecke zum Grashüpfer wird“ und nicht mehr schadet | 20. Mai bis 10. Juni 1904 |
| Fortpflanzungsperiode und Tod | 10. Juni bis 10. August 1904 |

Den Lebenslauf des Einzelinsekts behandelt der II. Teil. Aus dem in die Erde abgelegten Ei schlüpft nach 6—8 Wochen, je nach der höheren oder niederen Temperatur des Ortes, das junge Insekt, das in kurzer Zeit zur fertigen geflügelten Heuschrecke heranwächst. Unausgebildet bleiben während der ersten Wanderung, des Winter-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufenthalts und der zweiten Wanderung der Schwärme (s. oben) das Genitalsystem, das dann aber sehr schnell heranreift. Zirka 5 Tage nach der Kopulation, die etwa 15—20 Stunden in Anspruch nimmt, legt das Weibchen die befruchteten Eier, während das Männchen gleich nach vollzogenem Begattungsakt, bei dem es zum ersten und letzten Male im Leben ein scharfes Zirpen hören läßt, stirbt. Besonders charakteristisch ist der Farbenwechsel der Insekten im Laufe ihres 11-monatlichen Lebens.

Die Methoden zur Vernichtung der Heuschrecken ergeben sich aus ihren Lebensgewohnheiten von selbst (Teil III). Das geflügelte Insekt läßt sich während der wärmeren Jahreszeit relativ leicht aus den gefährdeten Feldern aufjagen und auf Stellen treiben, wo es keinen Schaden anrichten kann. Einzelne Tagesstunden, und zwar 7,30—9,30 Uhr am Vormittag und 4,30—6,30 Uhr am Nachmittag, sind besonders geeignet zu dieser Art der Abwehr, da zu dieser Zeit die Heuschrecken sich leicht aufscheuchen lassen und weit fliegen. In der kälteren Jahreszeit und während der Kopulationsperiode sind die Tiere träge und unbeholfen und lassen sich sammeln und totschlagen.

Ein darauf eingeübter Arbeiter kann am Tage bis 100 „Nester“ mit Eiern finden und vernichten, namentlich wenn er auf die Lieblingslegeplätze der Heuschrecken ein besonderes Augenmerk richtet, die die Erfahrung kennen lehrt, als da sind die Wälle der Reisfelder, Baumwollfelder etc. Ein großer Wert ist diesem Aufsuchen der Eier nicht beizumessen. Die „hoppers“, d. h. die noch ungeflügelten jungen Heuschrecken werden vorteilhaft in einem großen nach Art einer Dredsche aufgespannten Sack gefangen.

Die weiteren Abschnitte dieses Teiles behandeln die Mengen der Heuschrecken, Nahrungspflanzen, Verhalten in Gefangenschaft und Feinde. Von letzteren sind hervorzuheben die „gewöhnliche graunackige Krähe“ (Corvus splendens? d. Ref.) und die Affen, die leider zu durchschlagendem Erfolge zu wenig zahlreich sind. „Wenn diese ‚Affenprobe‘ etwas wert ist, sind die Heuschrecken auch für den Menschen ein gutes Nahrungsmittel.“ Hierzu kommen noch einige Feinde aus dem Reiche der Insekten.

Anhaltende Dürre vermag die abgelegten Eier zu töten; die „hoppers“ sind gegen Witterungseinflüsse jeder Art völlig unempfindlich, und das gleiche gilt auch von dem geflügelten Insekt. Interessant ist, daß die Heuschrecken zur Kopulation und Eiablage stets die ersten Regenfälle abwarten und niemals in dürrer Zeit mit dem Fortpflanzungsgeschäft beginnen.

Von Insektiziden kommt nur dem Arsenik in verschiedener Form größere Bedeutung zu, doch stehen auch seiner Anwendung wegen eventueller Vergiftung von Nutztieren mancherlei Bedenken entgegen.

Der IV. Abschnitt behandelt allgemein das „Heuschreckenproblem“ Indiens, zu dessen Lösung bis jetzt noch die nötigen Beobachtungen fehlen. Nähere Punkte, namentlich die Bedingungen der Schwarmbildung, sind noch recht wenig bekannt, ebenso die eigentliche Heimat der Schwärme. Von der Bedeutung des Problems geben folgende Zahlen eine Vorstellung:

| | |
|---|---|
| Im September 1903 bedeckten die Schwärme ein Areal von | 25 000 □-Meilen |
| Im Winter 1903—1904 zogen sie sich auf | 12 000 □-Meilen |
| zusammen, um sich 1904 über eine Fläche von | 140 000 □-Meilen |
| zu zerstreuen! | |

Teil V ist systematischen Betrachtungen über Acridium succinctum gewidmet, die Anhänge A—D behandeln offizielle Maßnahmen gegen die Heuschreckenplage, u. a. m. Vageler (Staßfurt).

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Lüders, H.,** Sesia flaviventris Stdgr. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiologie. Bd. I. [1. Folge Bd. X]. p. 382. Mit 1 Abb.)

Den seltenen Glasflügelschwärmer Sesia flaviventris Stdgr. stellte Verf. auch bei Hamburg fest und machte folgende Beobachtungen über seine Lebensweise. Die Raupe lebt in kropfigen Anschwellungen 2-jähriger Zweige der Salix caprea, cinerea und aurita vom Marke; oberhalb der so erzeugten Galle ist der Zweig in der Regel dicker als unter ihr, stirbt aber nur selten in dem Endstücke ab. Auch die genauer beschriebene Raupe hat ihren Sitz distal von der Anschwellung, der sie mit dem Kopfe zugekehrt ist; ihr Fraßmehl wirft sie nicht aus, sondern läßt es im oberen Teile des 3—4 cm langen Bohrganges. Bei der Zucht im Zwinger fallen die Puppen gegen das Ende der Puppenruhe (wohl infolge zu weiten Vorschiebens) leicht aus ihrer Behausung heraus, was für den im Juli erscheinenden Falter zur Folge hat, daß er wegen Mangel an einem Stützpunkte nicht im stande ist, die Puppenhaut zu sprengen. Jacobi (Tharandt).

**Hollrung,** Beiträge zur Bewertung der Saatkrähe auf Grund von 11-jährigen Magenuntersuchungen. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 579).

Der Arbeit des Verf. liegt ein reichhaltiges Material zu Grunde, das sich zusammensetzt aus

1) Untersuchungen von Krähenmagen, welche die Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten zu Halle während 11 aufeinanderfolgender Jahre, von 1895 bis 1905, ausgeführt hat,

2) einer von der Landwirtschaftskammer im Jahre 1899 veranstalteten Umfrage bei den Kreisvertretungen der Provinz Sachsen,

3) einer Reihe von brieflichen oder persönlichen Aeußerungen einzelner Landwirte oder von Mitteilungen solcher in der Presse.

Trotzdem konnte die aufgeworfene Frage, vor allem wegen der Ungewißheit bezüglich der Herkunft der pflanzlichen Magenbestandteile, nicht in exakter, jeden Zweifel beseitigender Weise beantwortet werden. Die mitgeteilten Aeußerungen praktischer Landwirte und der Kreisvertretungen der Provinz Sachsen über den Wert oder Unwert der Saatkrähe widersprachen sich derart, daß aus ihnen kein maßgebendes Urteil gewonnen werden konnte.

Im Gegensatz zu Rörig hat Verf. eine genaue Ermittelung der einzelnen Bestandteile des Mageninhalts nach ihrer Zugehörigkeit vorgenommen, die Gewichtsfeststellung dagegen unterlassen. Das Untersuchungsverfahren wird im einzelnen beschrieben und besonders die zur Erkennung und Bestimmung der tierischen Bestandteile angewendeten Methoden ausführlich mitgeteilt. Große Sorgfalt wurde auf die Feststellung der Zugehörigkeit der Insekten verwendet, wobei in der Mehrzahl der Fälle allein aus vorhandenen Bruchstücken Rückschlüsse auf das vollständige Individuum zu ziehen waren.

Eine besondere Vorliebe der Saatkrähe für bestimmte Nahrungsmittel kann aus den Versuchsergebnissen nicht gefolgert werden, und wenn sie trotzdem zuweilen bestimmte Stoffe in größeren Mengen aufgenommen hat als andere, so sind hierfür zufällige, durch Oertlichkeit, Witterung und Jahreszeit bedingte Umstände maßgebend. Verf. hatte bei seinen umfangreichen Untersuchungen den Eindruck, daß die tierische Nahrung der vegetabilischen so lange vorgezogen wird, als die Verhältnisse das gestatten. Grünende Pflanzen oder Pflanzenteile werden von

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Saatkrähe nicht gefressen. In den untersuchten 4000 Exemplaren von Corvus frugilegus hat sich nicht eine einzige komplette junge Pflanze vorgefunden. Der pflanzliche Anteil der wirklichen Krähennahrung beschränkt sich vielmehr auf die Samen bezw. Früchte. In sorgfältiger Weise wurde die Anzahl der einzelnen Getreidekörner ermittelt und unter Berücksichtigung der mannigfaltigsten äußeren Umstände derjenige Prozentsatz ermittelt, welcher sich in der Tat als Schädigung bemerkbar gemacht haben wird.

Die tierische Kost der Saatkrähe zeigt eine weit größere Mannigfaltigkeit als die pflanzliche. Unter der reichen Anzahl der Insekten herrschen die des Flugvermögens entbehrenden oder nur schwerfällig auffliegenden Arten vor. Die 4000 Krähen hatten beispielsweise 14710 Rüsselkäfer aufgelesen. Von großem Interesse ist die Beobachtung, daß gewisse sonst seltene Insekten in der Krähennahrung reichlich vorkamen, so z. B. der Rüsselkäfer Cleonus. „Es liegt die Vermutung nahe, daß der Saatkrähe es zuzuschreiben ist, wenn dieser Rübenschädiger so auffallend wenig zutage tritt.“

Bei der Abschätzung des Saatkrähenschadens gegenüber dem gestifteten Nutzen kommt Verf. zu dem Schlusse, daß beim Getreide der Nutzen den Schaden mindestens um das 10-fache übertroffen hat. Auch allgemein betrachtet überwiegt der Nutzen den Schaden, daher ist Verf. der Ansicht, daß es sich in der Saatkrähenfrage nur darum handelt, zu erörtern, 1) ob es Mittel gibt, welche geeignet sind, Schädigungen durch Saatkrähenfraß fernzuhalten; 2) ob die Möglichkeit vorliegt, den durch Saatkrähenfraß hervorgerufenen Schaden dem Betroffenen ganz oder teilweise zu ersetzen.

Das gesamte Ergebnis seiner Untersuchungen faßt Verf. wie folgt zusammen:

1) Die Saatkrähe ist omnivor, sie nimmt Sämereien, höhere und niedere Tiere, Steine wie auch allerhand Abfall auf. Die Eigenart der Stoffe, welche sie aufnimmt, richtet sich weniger nach einer persönlichen Neigung für ein bestimmtes Objekt als nach der größeren oder geringeren Zugänglichkeit derselben. Auch während der Wintermonate nimmt die Saatkrähe Insekten, Mäuse und andere tierische Nahrung, wenn sie solche erreichen kann, auf.

2) Besondere Ansprüche an den Ort der Nahrungsaufnahme stellt die Krähe nicht. Ohne wählerisch zu sein, besucht sie das frischgepflügte, das bestellte wie das in der Reife befindliche Feld, den Abwurfhaufen, Obstbäume, die auf der Landstraße lagernden Tierexkremente, die geöffnete Kartoffelmiete, die Getreidediemen, den Mistberg, die Getreidedreschplätze, Wildfutterstellen u. s. w. Im Walde sucht sie zumeist nur Unterkunftsplätze, ihre sonstige Tätigkeit beschränkt sich hier auf die Aufsuchung der Saatkämpe.

3) Unbedingt schädlich ist die Saatkrähe für die Jagd. Vielfach werden ihr aber Räubereien an jungen Hasen u. s. w. zugeschrieben, welche auf das Konto der Nebel- oder Rabenkrähe zu setzen sind. Ebenso schädigen die Saatkrähen unbedingt das in Diemen lagernde Getreide, weit weniger aber als die Nebelkrähen.

4) Die durch die Saatkrähe gefährdeten Feldfrüchte sind in erster Linie die Halmgewächse einschließlich Mais, gewisse Papilionaceen, Buchweizen und Kartoffel.

5) Unter den von den Saatkrähen vertilgten Schädigern der Feldkulturen befinden sich namentlich der Maikäfer, sowie der Engerling des-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben, der Drahtwurm und die zu ihm gehörigen Käfergattungen, der Aaskäfer, der Luzernelappenrüßler, sowie viele andere Angehörige der Curculioniden-Familie, der Schildkäfer, graue Raupen, Frostspannerraupen, Kohl- und Wiesenschnaken.

6) Ein für alle Fälle zutreffendes, einheitliches Urteil über den Wert der Saatkrähe läßt sich nicht fällen. Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß je nach der Lage der Krähenkolonie in dem einen Bezirke die Schäden, in dem andern der Nutzen der Saatkrähe überwiegen.

7) Eine vollständige Ausrottung der Saatkrähen erscheint unter keinen Umständen gerechtfertigt, schon deshalb nicht, weil es unzweifelhaft feststeht, daß sie kulturschädliche Tiere und darunter auch das mit künstlichen Vertilgungsmitteln schwer zu erreichende Bodenungeziefer in erheblichen Mengen vertilgen.

8) Es findet sehr häufig eine Verwechslung von Saat- und Nebelkrähe, sowie deren Schädigungen statt. Vogel (Bromberg).

## Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Hoffmann, W.,** Ueber den Einfluß hohen Kohlensäuredruckes auf Bakterien im Wasser und in der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. p. 379.)

Die Ergebnisse der Untersuchungen werden folgendermaßen zusammengefaßt:

1) Durch stationäre Einwirkung von hohem Kohlensäuredruck können Wasserbakterien stark in ihrer Entwickelung gehemmt werden.

2) Die 24-stündige stationäre Einwirkung 50-atmosphäriger Kohlensäure bei niederer Temperatur auf filtriertes Flußwasser ist eine solche, daß trotz 24-stündiger Anreicherung mit Peptonkochsalzlösung Bakterien auf festen Nährböden bei mehrtägiger Beobachtung nicht zum Auswachsen kommen.

3) Filtrierte wässerige Aufschwemmungen von Typhus-, Cholera-, Ruhrbacillen zeigen nach 3-stündiger Einwirkung 50-atmosphäriger Kohlensäure und nachfolgender 48-stündiger Anreicherung bei 37° keine Entwickelung auf optimalen Nährböden.

4) 50-atmosphärige Kohlensäure läßt bei 56° in 24 Stunden in Milch das Kasein ausfallen und das Serum sich abscheiden.

5) Es gelingt nicht, die Milchbakterien durch hohen Kohlensäuredruck so zu beeinflussen, daß sie auf festen Nährböden nicht mehr wachsen; es tritt jedoch zum mindesten keine Vermehrung der Milchkeime ein.

6) Frische, unter hygienischen Vorsichtsmaßregeln gewonnene Milch kommt unter hohem Kohlensäuredruck 24—48 Stunden später zur Gerinnung als dieselbe Milch ohne $CO_2$-Druck unter sonst gleichen Bedingungen.

7) Agglutinine werden durch 48-stündige Einwirkung mittlerer Kohlensäuredrucke in verdünnten Serumlösungen nicht geschädigt, vorhandene andere bakterielle Verunreinigungen zurückgedrängt bezw. beseitigt. Hetsch (Metz).

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

# Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

## Allgemeines, Lehrbücher etc.

**Delbrück, M.**, Der physiologische Zustand der Zelle und seine Bedeutung für die Technologie der Gärungsgewerbe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 40. p. 513—516.)

**Heim, Ludwig**, Lehrbuch der Bakteriologie mit besonderer Berücksichtigung der Untersuchungsmethoden. Diagnostik und Immunitätslehre. 3. vollst. umgearb. Aufl. Stuttgart (Enke) 1906. XII, 550 p. 8⁰. 13 Taf. u. 233 Fig. 14,60 M.

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Christensen, Harald R.**, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 109—119. 4 Fig.)

**Galimard, J., Lacomme, L.** et **Morel, A.**, Culture de microbes en milieux chemiquement définis. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLIII. 1906. N. 7. p. 349—350.)

**Neumann, G.**, Der Nachweis des Bacterium coli in der Außenwelt unter Zuhilfenahme der Eijkmannschen Methode. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. 1906. Heft 2. p. 174—186.)

**Weleminsky, F.**, Ueber Züchtung von Mikroorganismen in strömenden Nährböden. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 4. p. 376—380. 1 Fig.)

**Zwints, Julius** und **Thien, Otto**, Ueber einen neuen elektrisch heizbaren Objekttisch für Mikroskope. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. p. 179—181. 1 Fig.)

## Systematik, Morphologie.

**Bruner, Lawrence**, Synoptic List of Paraguayan Aecididae, or locusts, with descriptions of new forms. (Proc. Unit. Stat. Nat. Mus. Vol. XXX. 1906. p. 613—694. 3 Taf.)

**Caudell, Andrew Nelson**, The locustidae and gryllidae (katydids and crickets) collected by W. T. Foster in Paraguay. (Proc. Unit. Stat. Nat. Mus. Vol. XXX. 1906. p. 235—244.)

**Fuller, Claude**, Earth worms, round worms, fluke worms, and tape worms. (Natal agric. Journ. a. mining Record. Vol. IX. 1906. N. 7. p. 692—696. 2 Taf. u. 2 Fig.)

**Green, Ernest E.**, Entomological notes. (Tropical Agricultur. and Mag. of the Ceylon Agricult. Soc. N. S. Vol. XXVII. 1906. N. 1. p. 82—85. 1 Taf.)

**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 91—100. 4 Fig.)

**Moroff, Theodor**, Untersuchungen über Coccidien. 1. Adelea zonula n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. VIII. 1906. Heft 1. p. 17—51. 1 Taf. u. 24 Fig.)

**Neumann, G.**, Notes sur les Mallophages. (Bull. de la Soc. Zool. de France. T. XXI. 1906. N. 3. p. 54—60.)

**Nicoll, William**, Some new and little-known Trematodes. (Ann. and Mag. of nat. hist. Vol. XVII. 1906. Ser. 7. p. 513—527. 2 Taf.)

**Péju, G.** et **Rajat, H.**, Variations morphologiques et biologiques des bactéries dans les milieux salins. (Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. T. VIII. 1906. N. 5. p. 868—876. 2 Fig.)

**von Pelser-Berensberg, H.**, Biological insect collections. (Natal agric. Journ. Vol. IX. 1906. N. 7. p. 676—678. 1 Taf.)

**Petch, T.**, Mycological notes. (Tropical Agriculturist and Mag. of the Ceylon. Agricult. Soc. N. S. Vol. XXVII. 1906. N. 1. p. 86—87.)

**Reuss, Hans**, Die Fischfeinde aus der niederen Tierwelt. [Forts.] (Allg. Fischerei-Ztg. Jg. XXXI. 1906. N. 13. p. 288—291; N. 15. p. 329—334. 17 Fig.)

**Schuberg, A.**, Ueber eine Coccidienform aus dem Hoden von Nephelis vulgaris (Herpobdella atomaria), Orcheobius herpobdellae n. gen., n. sp. (Verh. d. Dtschen zool. Ges. 18. Vers. Marburg 1906. p. 233—249. 14 Fig.)

**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. 3. Mitt. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 75—91. 3 Taf. u. 14 Fig.)

## Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.)

**Abderhalden, Emil** und **Terunchi, Yutaka**, Kulturversuche mit Aspergillus niger auf

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einigen Aminosäuren und Peptiden. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLVII. 1906. Heft 4/6. p. 394—396.)

**Almagià, Marco,** Einfluß des Nährbodens auf die Morphologie der Kolonieen und auf die Agglutinabilität von Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. 1906. Heft 2. p. 159—173. 1 Taf.)

**Bogdanov, E. A.,** Ueber das Züchten der Larven der gewöhnlichen Fleischfliege (Calliphora vomitoria) in sterilisierten Nährmitteln. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 113. Heft 1/2. p. 105. 3 Fig.)

**okorny, Th.,** Ueber die Trennung von Leben nnd Gärkraft in der Hefe. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXIV. 1906. Heft 11/12. p. 535—544.)

**Buchner, Eduard** und **Meisenheimer, Jakob,** Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. (3. Mitt.) (Ber. d. Dtschen chem. Ges. Jg. XXXIX. 1906. N. 12. p. 3201—3218.)

**Ehrlich, Felix,** Ueber eine Methode zur Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe. (Biochem. Ztschr. Bd. I. 1096. Heft 1/2. p. 8—31.)

**Haselhoff, E.** und **Bredemann, G.,** Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Heft 3. p. 381—414. 3 Taf. u. 1 Fig.)

**Henneberg, W.,** Einfluß von zwölf Säurearten, von Alkohol, Formaldehyd und Natronlauge auf infizierte Brennerri- und Preßhefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 40. p. 527—530; N. 41. p. 546—549.)

**Hutchinson, H. B.,** Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 65—74. 4 Taf. u. 7 Fig.)

**Keding, Max,** Weitere Untersuchungen über stickstoffbindende Bakterien. (Wiss. Meeresuntersuch. hrsgb. v. d. Kommiss. z. wiss. Unters. d. deutschen Meere. Neue Folge. Bd. IX. 1906. Abt. Kiel. p. 273—308.)

**Lindner, P.** und **Stockhausen, F.,** Die Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. Mitt. 2. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 40. p. 519—523.)

**Rommel, W.,** Die Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 41. p. 549—552.)

**Schönfeld, F.** und **Rommel, W.,** Die Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 40. p. 523—527. 1 Taf.)

**Wolf, Kurt,** Abtötung von Bakterien durch Licht und Selbstreinigung der Flüsse. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 38. p. 1546—1547.)

**Wund, Martin,** Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender, sporenbildender Bakterienspecies. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 4. p. 289—296.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft, Wasser, Boden.

A discussion on the control of water supplies. (74. ann. meeting British med. assoc. 1906.) (British med. Journ. 1906. N. 2385. p. 619—629.)

**Hilgermann, R.,** Ueber die Verwendung des Bacillus prodigiosus als Indikator bei Wasseruntersuchungen. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. 1906. Heft 2. p. 150—158.)

### Nahrungsmittel im allgemeinen.

**E.,** Vergiftung durch Anhäufung der Konservierungsmittel. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 39. p. 532—533.)

**Haselhoff, E.** und **Bredemann, G.,** Untersuchungen über Konservenverderber. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Heft 3. p. 415—444.)

**Haselhoff, E.** und **Mach, F.,** Ueber die Zersetzung der Futtermittel durch Schimmelpilze. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Heft 3. p. 445—467. 3 Taf.)

**Saito, K.,** Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 101—109. 5 Taf.)

**Seidemann, Franz, Zielka, Franz** und **Krüger, E.,** Das Verhältuis zwischen Innen- und Außentemperatur beim Sterilisieren von Konserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 40. p. 545—546; N. 41. p. 559—560.)

**Vandevelde, A. J. J.,** Ueber die Anwendung von biologischen Methoden zur Analyse von Nahrungsstoffen. (Biochem. Ztschr. Bd. I. 1906. Heft 1/2. p. 1—7.)

### Fleisch.

**Paal, C.** und **Mehrtens, Gustav,** Gravimetrische Bestimmung des Salpeters in Fleisch. (Ztschr. f. Tuberk. Bd. IX. 1906. Heft 5. p. 410—416.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Milch; Molkerei.

**(von Behring,)** Das Behringsche Perhydrase-Verfahren zum Haltbarmachen der Milch. (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 41. p. 484—485.)

**Kinsella, J. A.,** The care and treatment of milk. (Natal agric. Journ. Vol. IX. 1906. N. 7. p. 678—682.)

**Knüsel, Otto,** Die Trockenmilch nach dem Verfahren Just Hatmaker und ihre Bedeutung. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVII. 1906. Heft 1. p. 16—23. 1 Fig.)

**Kuntze, W.,** Einiges über aseptische Milchgewinnung und bakteriologische Betriebskontrolle. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 41. p. 481—483.)

**Plehn,** Gesundheitsschädliche Milch. (Georgine. Jg. LXXIV. 1906. N. 29. p. 250—251.)

**Wennevold, O.,** Bereitung von Käse aus pasteurisierter Milch. (Milch-Ztg. Jg. LXXXV. 1906. N. 40. p. 471—472. [Maelkeritidende 1906. N. 6].)

### Wein, Weinbereitung.

Einfluß der Mostgewinnung, Gärung und Behandlung des Jungweines auf dessen Beschaffenheit. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 38. p. 375—376; N. 39. p. 386—387.)

**Fallot, B.,** La fermentation secondaire. (Rev. de Viticult. Année XIII. 1906. N. 668. p. 382—383.)

**Thomas, G.,** Le décuvage. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 75. p. 298.)

—, L'assainissement des vaisseaux de fermentation. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 77. p. 306.)

—, La préparation des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 79. p. 314.)

—, La fermentation lente après le décuvage. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 80. p. 318.)

### Bier, Bierbereitung.

Praktisches Arbeiten im Brauereilaboratorium. Kurze Anleitung mit Beispielen u. Berechnungen zusgestellt von Dr. **Carl Kipke.** Berlin (Springer) 1906. (VIII, 74 S.) 8°.

### Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

**Loir, A.,** Désinfection par le gaz sulfureux produit par l'appareil Marot. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. 34. sess. Cherbourg 1905. p. 1025—1028.)

—, Désinfection et désodorisation. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. 34. sess. Cherbourg 1905. p. 1028—1032.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur belebten Natur.

### Pflanzenkrankheiten.

**Bretschneider, Artur,** Die Kropfkrankheit des Kohls (Kohlhernie) und ihre Bekämpfung (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1906. N. 36. p. 292. [Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstat. Wien. Flugbl. 13.] 3 Fig.)

**Brzezinski, J.,** Der Rübenparasit Myxomonas betae als Erreger des Wurzelbrandes. Besprochen von H. Briem. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIII. 1906. N. 14. p. 209—212.)

**Cavara, F.,** Bacteriosi del fico. (Atti d. Accad. Gioenia di Sc. nat. in Catania. Anno LXXXII. 1905. Ser. Quarta. 17 p. 1 Taf.)

**Delacroix, Georges,** Sur une maladie de la pomme de terre produite par Bacillus phytophthorus (Frank) O. Appel. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIII. 1906. N. 9. p. 383—384.)

Der Kiefernblattwespenfraß im Schwanheimer und Flörsheimer Wald 1904 und 1905. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVIII. 1906. N. 27. Forstl. Beilage. Jg. LIV. N. 7. p. 26—28.)

Die St. Johanniskrankheit der Erbsen. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. XI. 1906. N. 27. p. 177.)

**Dietrich,** Der Pflaumenbaum-Splintkäfer und seine Bekämpfung. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LXIII. 1906. N. 26. p. 351—352.)

**E. N.,** Die ärgsten Schädlinge unserer Weiden. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. Heft 26. p. 654—655.)

Ein gefährlicher Getreideschädling dieses Sommers. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. XI. 1906. N. 30. p. 195—196.)

**Franklin, G. D.,** Some observations on the breeding ground of the common house-fly and a description of a species of moth-fly. (Indian med. Gaz. Vol. XLI. 1906. N. 9. p. 349—350. 3 Taf.)

**Froggatt, Walter W.,** Mealy bugs. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVII. 1906. Part 8. p. 770—779. 1 Taf.)

**Giard, Alfred,** Sur les progrès de la mouche des fruits (Ceratitis capitata Wied) aux environs de Paris. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLIII. 1906. N. 8. p. 353—354.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Harrison, F. C.,** A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. N. 3/4. p. 120—128. 9 Taf.)

**Houard, C.,** Les cécidies et les cécido-zoaires des Bruyères. (Compt. rend. Assoc. franç. 34. sess. Cherbourg 1905. ersch. 1906. p. 525—528. 10 Fig.)

**Kotelmann,** Eine neue Krankheit der Stachelbeeren. (Königsberg. Land- u. Forstw. Ztg. Jg. XLII. 1906. N. 32. Beilage. p. 241—242.)

**Langenbeck, E.,** Die Kartoffelkrankheiten und ihre Bekämpfung. (Mecklenburg. landw. Ztg. Jg. 1906. N. 26. p. 313—314.)

**Lüstner, Gustav,** Ueber vom ungleichen Borkenkäfer (Tomicus oder Bostrychus dispar) hervorgerufene Schäden an Obstbäumen. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVIII. 1906. N. 30. Beil. p. 206—208.)

—, Der Apfelwickler (Obstmade, Obstwurm, Carpocapsa pomonana). (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVIII. 1906. N. 30. Beilage. p. 205—206. 5 Fig.)

**Molz, Emil,** Ueber die Graufäule der Trauben und ihre Bekämpfung. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVIII. 1906. N. 9. p. 159—163.)

**Patton, W. S.,** On a parasite found in the white corpuscles of the blood of palm. squirrels. (Scientific Mem. by officers of the med. a. sanit. Depart. of the Government of India. N. Ser. 1906. N. 24. 13 p. 1 Taf.)

**Reed, Howard S.,** Three fungous diseases of the cultivated ginseng. (University of Missouri. College of Agriculture and Mechanic Arts. Agricultural Experiment Station. Bull. N. 69. October 1905. p. 43—66. 1 Taf. u. 8 Fig.)

**Rörig, G.,** Der Kiefernspinner (Bombyx pini). (Flugblätt. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Berlin 1906. N. 37. 4 p. 4 Fig.)

**Scheidemann,** Das Auftreten des Rüsselkäfers in Ungarn. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschen Zuckerindustrie. Lief. 606. 1906. p. 621—625.)

Starkes Auftreten des Goldafters (Porthesia chrysorrhoea). (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXIII. 1906. N. 75. p. 602.)

**Stoklasa, Julius,** Wurzelbrand der Zuckerrübe. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIII. 1906 N. 13. p. 193—198.)

**Zschokke,** Der Springwurmwickler in Trauben? (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 40. p. 369—370.)

### Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

**Basler, S.,** Zur Bekämpfung der Rebenkrankheit Peronospora (Blattfallkrankheit) und Oidium (Aescherig). (Wchnbl. d. landw. Ver. i. Großh. Baden. 1906. N. 35. p. 535—536.)

**Dümmler,** Versagt die Kupferkalkbrühe bei der Bekämpfung der Blattfallkrankheit der Reben? (Wchnbl. d. landw. Ver. i. Großh. Baden. 1906. N. 35. p. 531—535.)

**Fischer,** Eine empfehlenswerte Rebenspritze. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVIII. 1906. N. 9. p. 163—166. 2 Fig.)

**Held,** Zur Bekämpfung des Baumkrebses. (Württemberg. Wchnbl. f. Landw. 1906. N. 29. p. 536—537.)

**Hertzog, R. J.,** Der Kampf gegen die Schädlinge unserer Kulturpflanzen und die Volksschule auf dem Lande. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIV. 1906. N. 27. p. 626—627.)

## Inhalt.

**Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Bakter. Laborat. d. schweizer. landw. Versuchs- u. Untersuchungsanstalten in Bern.

**Freudenreich, Ed. v.** und **Orla Jensen,** Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung, p. 529.

**Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.**

Société chimique de Belgique.

**Laer, H. van,** Ueber die diastatische Katalyse von Wasserstoffsuperoxyd, p. 546.

**Referate.**

**Barthel,** Können die Milchsäurebakterien einen konservierenden Einfluß auf den Stalldünger ausüben? p. 567.

**Bettges, W.,** Zur Sarcinafrage, p. 558.

**Bippart,** Wird durch die Brache dem Acker Stickstoff aus der Luft zugeführt, der den Halmfrüchten als Nahrung dient? p. 571.

**Bötticher,** Die Tätigkeit der Bodenbakterien im Haushalt der Natur, p. 568.

**Franke, Otto,** Die Zukunft der Weißbierbrauerei, p. 560.

**Hansen, Emil Chr.,** Considerations on technical mycology, p. 554.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Hiltner** und **Kintzel,** Ueber die Ursachen und die Beseitigung der Keimungshemmungen bei verschiedenen praktisch wichtigeren Samenarten, p. 574.
**Hollrung,** Beiträge zur Bewertung der Saatkrähe auf Grund von 11-jährigen Magenuntersuchungen, p. 585.
**Houard, C.,** Cueillette cécidologique dans le Bassin de la Garonne, p. 580.
—, Les diptérocécidies des Genévriers, p. 580.
—, Les galles de l'Afrique occidentale française. II. Diptérocécidie foliaire de Ficus Vogeli Miquel, p. 581.
—, Sur une diptérocécidie nouvelle du Daphne Laureola L., p. 581.
—, Sur l'anatomie de la galle de l'involucre des Euphorbes, p. 582.
**Kadgien,** Die chemischen und physikalischen Veränderungen des Bodens bei der Brache mit Berücksichtigung der Frage, ob bei derselben ein Raubbau stattfindet, p. 573.
**Koch** und **Kröber,** Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten, p. 570.
**Laurent, J.,** Les facteurs de la structure chez les végétaux, p. 580.
**Lafar,** Handbuch der technischen Mykologie. 7. Forts., p. 548.
**Löb, Walther,** Zur Kenntnis der Assimilation der Kohlensäure, p. 560.
**Lüders, H.,** Sesia flaviventris Stdgr., p. 585.
**Maxwell-Lefroy,** The Bombay locust (Acridium succinctum Linn.). A report on the investigations of 1903—1904, p. 583.
**Molliard, M.,** Structure des végétaux développés à la lumière, sans gaz carbonique, en présence de matières organiques, p. 579.
—, Nouveau cas de virescence florale produite par un parasite localisé dans le collet, p. 580.
**Petry,** Ueber die Einwirkung des Labferments auf Kasein, p. 562.
**Pfeiffer, Ehrenberg** und **Reichenbach,** Ueber die Stickstoffbindung im Ackerboden, p. 568.
**Pinoy,** Rôle des bactéries dans le développement du Plasmodiophora Brassicae, p. 576.
**Poirault, G.,** Sur une Chytridinée parasite du Muscari comosum, p. 576.
**Ravaz, L.** et **Roos, L.,** Sur le rougeot de la vigne, p. 579.
**Ravaz, L.,** Sur la cause du dépérissement des vignes de la Tunisie, de l'Algérie et du Midi de la France, p. 579.
**Rheinfels, Curt,** Das Maltodextrin γ, ein Zwischenprodukt der diastatischen Stärkehydrolyse, p. 559.
**Röhling, Alfr.,** Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des Saccharomyces apiculatus, p. 558.
**Schikorra, Georg,** Fusarium-Krankheiten der Leguminosen, p. 577.
**Schmidt, H.,** Zur Kenntnis der Hefegärung, p. 557.
**Schöne, Albert,** Bakteriologische Untersuchungen und Betrachtungen über das Lagern von Rohzucker, p. 563.
**Schulze, E.,** Ueber den Abbau und den Aufbau organischer Stickstoffverbindungen in den Pflanzen, p. 567.
**v. Seelhorst,** Die Brache, p. 571.
**Siau, R. L.,** Brewery infection and pure yeast, p. 559.
**Stoklasa** und **Vitek,** Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure, p. 571.
**Stutzer,** Die Gewinnung des Stickstoffes für die Landwirtschaft im 20. Jahrhundert, p. 565.
—, Die Wirkung von Nitrit auf Pflanzen, p. 566.
**Ulrich,** Welche Vorgänge spielen sich im Ackerboden während der Brachehaltung ab? p. 572.
**Viala, P.** et **Pacottet, P.,** Sur les levures sporulées de Champignons à périthèces (Gloeosporium), p. 555.
— —, Nouvelles recherches sur l'anthracnose de la vigne. II: Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du Manginia ampelina, p. 578.
— —, Sur les levures de champignons à périthèces (Gloeosporium), p. 578.
— —, Sur les kystes des Gloeosporium et sur leur rôle dans l'origine des levures, p. 578.
**Vosseler, J.,** Die bunte Stinkschrecke, p. 582.
—, Ein Schädling von Ficus elastica, p. 582.
**Vuillemin, P.,** Le problème de l'origine des levures, p. 555.
—, La castration femelle et l'androgénie parasitaires du Lonicera Periclymenum, p. 577.
**Witt, O. N.,** Die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs, p. 565.
**Wolf, Karl,** Säuregrad und Keimgehalt bei gewöhnlicher und bei pasteurisierter Milch, p. 564.
**Zikes,** Ueber geotaktische Bewegungen des Bacterium Zopfii, p. 547.

**Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**

**Hoffmann, W.,** Ueber den Einfluß hohen Kohlensäuredruckes auf Bakterien im Wasser und in der Milch, p. 587.

**Neue Litteratur,** p. 588.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 19|21.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

Mit 7 Textfiguren und 4 Tafeln.

(Schluß.)

Die Riesenzellen sind in den unteren Schichten der Kolonieen am zahlreichsten und haben eine durchschnittliche Größe von $9 \times 10\ \mu$.

Auch in den Kolonieen der Frohberg-Hefe läßt sich eine allmähliche Abänderung der Zellform von den oberen zu den unteren Zellschichten, ähnlich wie in den Kolonieen der Brennereihefe, verfolgen, jedoch fehlt bei der Frohberg-Hefe die dritte Zellform, die Mycelform, vollständig. Die Kolonieen der Frohberg-Hefe haben das Kennzeichnende, daß die Mycelbildung fehlt und daß Zonenbildung bei ihnen nicht auftritt, selbst dann nicht, wenn man sie dem Einflusse des Wechsels von Licht und Dunkelheit aussetzt.

3) Die Kolonieen von Mycoderma cerevisiae.

Die Kolonieen dieses Organismus sind wegen ihrer eigenartigen Struktur, der Teilung der Kolonieen in mehrere scharf begrenzte Zonen und des eigentümlichen Wachstums des Mycels besonders interessant und lehrreich. Die beistehende Abbildung zeigt einen schematischen Schnitt durch die Kolonie.

Neben den zwei verschiedenen Zelltypen, die in Kolonieen von Saccharomyces cerevisiae, Lindner 86 vorkommen, fand ich in meinen Kolonieen noch andere, die ich bisher nur in Kolonieen von Kahmhefe angetroffen hatte, und zwar sind sie so regelmäßig, daß ich Veranlassung nahm, den Ursachen ihres Auftretens näher nachzuforschen.

Diese Kahmhefe wächst auf Würzeagar sehr kräftig und bildet Kolonieen mit regelmäßigem Rand und trockener, nicht glänzender,

Fig. 7. Schnitt durch eine Kolonie von Mycoderma cerevisiae.

etwas gefalteter Oberfläche. Bei schwacher Vergrößerung sieht man, daß lange, dünne Zellen von der Kolonie herauswachsen. Unter gewöhnlichen Bedingungen ist von einer Zonenbildung nichts zu sehen. Sie ist jedoch vorhanden, und man kann sie durch Uebergießen der Kultur mit einer Flüssigkeit, z. B. geschmolzenem Agar, und nach Ablösung der oberen Zellschicht der Kolonie (vergl. oben) sichtbar machen.



Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die obere Schicht der Kolonie setzt sich aus kleinen, kugeligen Zellen von $3 \times 2$ μ Größe zusammen, die reich an Zellinhalt zu sein scheinen.

Die unmittelbar auf dem Nährboden sitzenden Zellen färben sich schwerer, sind länger, $6 \times 2^1/_2$ μ, scheinen viel ärmer an Inhalt zu sein und haben häufig 3—4 Vakuolen. Meistenteils sind sie der Hauptsache nach vertikal gestellt und bilden lange Ketten.

Aehnlich diesen eben beschriebenen Zellen sind andere, welche haufenweise in verschiedenen Teilen des unteren Teiles der Kolonie zusammenliegen. Sie sind etwas länger und breiter als die vorigen und enthalten nur wenige Vakuolen. Von einer Differenzierung des Zellinhaltes ist nichts zu bemerken. Das Vorkommen der verschieden gearteten Zellen dürfte durch den wechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit veranlaßt sein, eine Vermutung, die unterstützt wird

1) durch die regelmäßige Verteilung der Zellhaufen über den ganzen Querschnitt der Kolonie;

2) durch den Umstand, daß solche Haufen von Zellen in Kolonieen, die im Dunkeln gewachsen sind, überhaupt nicht zu sehen sind;

3) durch ihr schwaches Vermögen, Farbstoffe aufzunehmen.

Durch verschiedene Versuche, deren Resultate bereits oben angeführt sind, konnte gezeigt werden, daß die Säureproduktion im Licht und in Gegenwart von Sauerstoff viel energischer vor sich geht, als im Dunkeln und ohne Luftzutritt.

Färbeversuche ergaben, daß der Farbstoff (Saffranin) weniger leicht von stark sauerem Material bei nachfolgendem Auswaschen mit Alkohol festgehalten wird, als von alkalischen. Die Vermehrung der Zellen war auch bei dieser Hefeart kräftiger im Dunkeln, als im Licht.

Nach den Ergebnissen der oben erwähnten Versuche ist es nicht unmöglich, daß die Anhäufung der Stoffwechselprodukte in den unteren Partieen der Kolonieen die eingetretene Verlängerung der Zellen bewirkte. Charakteristisch für die Kolonieen dieser Sproßpilze ist die Bildung von Mycel, welches mit dem der echten Saccharomyceten keine Aehnlichkeit hat.

Das Mycel wächst nämlich nicht gleichmäßig über die ganze Unterseite der Kolonie, sondern in Bündeln von ca. 20 Zellen, die Zwischenräume neben sich freilassen, und die von höherliegenden Teilen der Kolonie ausgehen, wie es in der vorstehenden Figur schematisch dargestellt ist.

Der Umstand, daß die Mycelbildung nur an gewissen Stellen der Unterseite der Kolonie, die ziemlich regelmäßig verteilt sind, stattfindet, führt mich zu dem Schluß, daß wir auch hier wieder die morphologische Wirkung irgendwelcher periodisch wechselnden Kulturbedingungen, vielleicht des Wechsels der Belichtung, vor uns haben. Die Mycelfäden, welche von der Mitte der Kolonie ausgehen, wachsen senkrecht in das Nährsubstrat hinein und bilden lange, sehr dünne Zellen von ca. $15 \times 1{,}5$ μ Größe, während die Fäden am Rande nicht senkrecht nach unten gehen, sondern nach auswärts gebogen erscheinen. Die Zellen dieser Fäden besitzen entweder gar keinen Inhalt oder nur ganz wenig und dann nur an dem Ende der Zellen, das am weitesten der Kolonie abgewendet ist. Hier finden sich gewöhnlich 2—4 kleine, rundlich-ovale, leicht färbbare Zellen, die reich an Zellinhalt sind. Sehr wahrscheinlich wird das Protoplasma der langen, dünnen Mycelfäden zur Bildung dieser Zellen verbraucht. Man findet nämlich manchmal Mycelfäden, die ganz zusammengeschrumpft sind. Nach der Bildung

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser kleinen Sproßzellen entsteht wieder eine lange, nach unten gerichtete Mycelzelle, die ihrerseits wiederum mehrere kleine Sprosse hervorbringt, und so kann sich dieser Vorgang noch mehrere Male wiederholen und können Zellketten in einer Länge von ca. 0,9 mm entstehen.

Aeltere Kolonieen weisen eine sehr stark ausgeprägte Mycelbildung mit deutlich nach außen gekrümmten Ketten auf. Die Krümmung ist so stark, daß die Richtung der Ketten parallel zur Oberfläche des Substrats wird. Sie wachsen dann in einer Tiefe von ca. 60 $\mu$ weiter und bilden hin und wieder Sprossungen. Vielleicht hängt dies damit zusammen, daß die Ketten auf diese Weise ihren Bedarf an Nährstoffen und an Sauerstoff am leichtesten zu decken vermögen.

Es kommt auch vor, daß die Mycelfäden am Rand der Kolonie zur Oberfläche des Agars emporwachsen, um sich dort weiter auszubreiten, doch sind dies Ausnahmefälle und zählen nicht zu den typischen Erscheinungen des Wachstums.

Zuweilen trifft man Kolonieen mit einer Mycelbildung, die viel ausgedehnter ist, als sie es gewöhnlich zu sein pflegt, und zwar in der Weise, daß unter dem Rande der Oberflächenkolonie Mycelfäden in großer Zahl mit scharfer Biegung nach außen auftreten. In solchen Kolonieen finden sich reichliche Mengen von intercellulären, gelatinösen Stoffen, was vielleicht eine Folge ungünstiger Ernährungsbedingungen (Eintrocknen u. s. w.) ist.

Impft man Mycelzellen auf frischen Nährboden über, so erhält man Kolonieen von sehr charakteristischem Aussehen. Sie sind viel haariger oder filziger als die gewöhnlichen Kahmhefekolonieen, bestehen aus längeren Zellen und haben ein reich entwickeltes Mycel. Die in früheren Kolonieen erworbenen Eigenschaften der Zellen scheinen somit erblich zu sein.

Bei den Kolonieen der Hefearten treten, wie wir sehen, ganz ähnliche morphologische Verschiedenheiten der Zellen auf, wie bei den Bakterienkolonieen. Bezüglich der Hefekolonieen schreibt Will (32): „Die verschiedenen Zellelemente, welche in der Haut regellos zerstreut sind, erscheinen in den normal ausgebildeten Riesenkolonieen in bestimmter regelmäßiger Weise angeordnet und bedingen den morphologischen Charakter derselben. Die Riesenkolonieen sind in bestimmter Weise organisiert. Mit dieser Organisation scheint aber im allgemeinen auch den verschiedenen Zellen eine verschiedene Funktion angewiesen zu sein; es geht also möglicherweise mit der Differenzierung der Funktion eine Differenzierung der Form Hand in Hand. Zum Teil scheint diese Differenzierung auch in der Beschaffenheit des Zellinhaltes zum Ausdruck zu kommen."

„Die, dem Prinzip der Arbeitsteilung entsprechend, besonderen Funktionen angepaßten Zellformen, deren spezielle Arbeitsleistung der Gesamtheit der die Riesenzellen aufbauenden Zellen zu Gute kommt bezw. deren Nachkommen, können aber durch Einführung in zuckerhaltige Lösungen wieder früher oder später zur Alkoholgärungsform zurückgeführt werden."

Ob, wie Will zu glauben scheint, eine Arbeitsteilung in den Kolonieen stattfindet, ist jedenfalls noch sehr fraglich. Wenn wir die am einfachsten gebauten Kolonieen, die Kolonieen von Frohberg-Hefe, betrachten, so finden wir zwischen ihnen und den Kolonieen von Bacillus subtilis große Aehnlichkeit. An den Rändern und der



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oberfläche der Kolonieen finden wir normale oder beinahe normale Zellen, die durch Seitendruck ihrer Hauptachse nach horizontal oder schräg, in den mittleren und unteren Schichten dagegen senkrecht liegen. Nach meiner Ansicht ist diese Art der Lagerung die Folge von äußeren Wirkungen, namentlich von Druckwirkungen, und hat mit der Nährstoffzufuhr aus dem Nährboden nach den oberen Schichten der Kolonieen nichts zu tun. Ich habe bei meinen Untersuchungen des Mycels niemals Erscheinungen wahrgenommen, welche der Theorie der Arbeitsteilung zur Stütze hätten dienen können, oder welche darauf hindeuteten, daß das Mycelium eine besondere Rolle bei der Ernährung der ganzen Kolonie spielte.

Wie in den Bakterienkolonieen so werden jedenfalls auch in den Hefekolonieen durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten in den unteren Schichten Veränderungen der Zellform bewirkt.

Bei der Brennereihefe haben wir es mit etwas komplizierteren Verhältnissen zu tun, und zwar, wie mir scheint, mit ähnlichen Verhältnissen und Wachstumsformen, wie sie uns in den von Will beschriebenen Kolonieen entgegentreten.

In den oberen Schichten sind die Zellen von rundlicher Form und sehr ähnlich den Zellen der Bodensatzhefen; in den mittleren und äußeren Schichten sind sie wurstförmig wie die sogenannten Kahmhautzellen erster Generation, und in den unteren Teilen der Kolonieen erscheinen sie langgestreckt und gleichen den Kahmhautzellen zweiter Generation, welche die „rhizoiden Anhänge“ der Kolonieen bilden. Diese letztgenannten Zellen wachsen tief in das Nährsubstrat hinein, wie Will es beschreibt (33), wenn er sagt: „Je größer diese Anhänge werden, desto mehr zeigen sie eine ausgesprochene Wachstumsrichtung nach dem Rande der Kolonie“.

Obgleich dieses Mycel in vielen Kolonieen reich entwickelt ist und seitlich über den Rand der Oberflächenkolonie hinauswächst, konnte ich doch nur in Ausnahmefällen beobachten, daß es bei der Ausbildung der Oberflächenkolonie beteiligt ist. Wenn ich Will richtig verstehe, scheint er anderer Ansicht zu sein, da nach ihm „die weitere Entwickelung der Riesenkolonie dadurch erfolgt, daß die rhizoiden Anhänge der Unterseite über den Rand der Kolonieen vorgreifen und dann eine neue Zuwachszone um denselben auf der Gelatineoberfläche bilden“. Man darf freilich nicht vergessen, daß Will mit Gelatine, ich hingegen mit Agar arbeitete, und daß deswegen die beiderseitigen Beobachtungen nicht ohne weiteres vergleichbar sind. Jedenfalls haben die Gelatinenährböden den großen Nachteil, daß durch das leicht eintretende Weichwerden oder durch ein Einsinken der Kolonieen in die Gelatine die Beobachtungen erschwert werden.

Nach der Ueberzeugung, die ich gewann, wird durch das Mycel weder die Aufnahme der Nährstoffe für die gesamte Kolonie erleichtert, noch auch das Oberflächenwachstum der Kolonie gefördert. Es ist vielmehr das Auftreten von Mycel als das Symptom gewisser morphologischer und physiologischer Zustände einer Kolonie aufzufassen. Das Mycel wächst nicht von der Hauptmasse der Kolonie fort, um neue Nahrung zuzuführen, sondern nur infolge des positiven Chemotropismus der Nahrungsstoffe und des negativen Chemotropismus der Stoffwechselprodukte.

Ist diese Auffassung richtig, so läßt sich erwarten: 1) daß in älteren Kolonieen, in denen die Anhäufung von Stoffwechselprodukten am stärksten ist, auch die Mycelbildung am stärksten hervortritt;

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) daß Kolonieen von Organismen derselben Art ein ganz verschiedenes Aussehen, was Gestaltung der Kolonie und Form der Zellen anbelangt, zeigen werden, je nach dem sie sich auf frischen Medien oder auf Nährböden, die mit Stoffwechselprodukten bereits beladen sind, z. B. auf Biergelatine entwickeln. Beides wird durch meine Versuche bestätigt.

Ich benutzte zu meinen Versuchen die Brennereihefe 86 und stellte mir die Biergelatine in der Weise dar, daß ich die Würze, die 10 Tage lang gegoren hatte, mit 10 Proz. Gelatine versetzte und dann bei 56—60° sterilisierte. Die so erhaltene Gelatine zeigte genau dieselbe Konsistenz wie gewöhnliche Würzegelatine. Des Vergleiches wegen wurden stets Kulturen auf Würze- und Biergelatine nebeneinander angelegt, und zwar mit Hefe No. 86, d. h. mit derselben Hefe, durch welche die Würze vergoren war.

Um die Versuche weiter auszugestalten, filtrierte ich vergorene Würze von ihrem Bodensatz ab, sterilisierte das Filtrat möglichst vollkommen bei 55° und impfte dann wieder mit Hefe 86. Dies wiederholte ich mehrmals und konnte in jeder der also erhaltenen Kulturen beobachten, daß die Hefe im Laufe von 2—3 Tagen zu wachsen anfing und keulenförmige, langgestreckte Zellen bildete, die voll von Körnchen und Fett und den Mycelzellen der Kolonieen ähnlich waren.

Die Bodensatzhefe wuchs auf Biergelatine viel langsamer als auf gewöhnlicher Würzegelatine. Es bildete sich in einigen Tagen eine einfache Zellschicht, die langsam zu einer glatten Kolonie auswuchs, die kein charakteristisches Merkmal aufwies, nur weich, saftig und glänzend aussah.

Die meisten Zellen dieser Kolonie waren langgestreckt, unterschieden sich deutlich von denjenigen Zellen derselben Art, die in den ersten 2—3 Tagen auf Würzegelatine wachsen, mit voranschreitendem Alter der Kolonieen wurden die Zellen immer ähnlicher.

Auf Gelatine, die mit viermal vergorener Würze bereitet war, blieben die Kolonieen noch kleiner und ließen nach 2—3 Wochen einen infolge Mycelbildung stark ausgefransten Rand erkennen. Daß sich Biergelatine zur Züchtung der Mycelform, d. h. der Kahmhautzellen zweiter Generation, besser eignet als Würzegelatine, hat auch Will (34) beobachtet. „An den Kahmhautzellen zweiter Generation lassen sich zwei Wachstumsformen unterscheiden. Bei der einen Form entstehen an den Enden der Mutterzellen, gedrungen-ovale bis rundliche Seitenglieder, welche anfangs unregelmäßige Zellhaufen bilden, später aber auch den Wachstumstypus I annehmen. Im zweiten Falle entsteht dadurch, daß die Mutterzellen weiter wachsen, ein ausgebreitetes, lockeres Netzwerk. Auf Würze ist die erste Wachstumsform vorherrschend, auf Biergelatine die zweite." Hier sehen wir, daß die Anhäufung von Stoffwechselprodukten (oder Erschöpfung des Nährbodens wie auf Biergelatine und in alten Kulturen) die Bildung von Kahmhautzellen zweiter Generation begünstigt. Je älter eine Kolonie wird, desto stärker ist die Mycelbildung. Sie ist also nicht abhängig von Unterschieden in der Konzentration des Nährbodens, sondern ist bedingt durch die Gegenwart von Stoffwechselprodukten. Hierdurch ist es nach Will (35) leicht erklärlich, daß „bei sämtlichen älteren Riesenkolonieen auch die Zuwachszone viel schärfer markiert war, als bei den Kolonieen von Bodensatzhefe". Wenn diese Zuwachszonen in der von ihm erwähnten Weise entstehen, so stimmt dies mit seiner Aeußerung überein, daß „wenn

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diese Zellgenerationen (1. und 2. Generationen der Kahmhautzellen) ihrem inneren Wesen nach identisch wären, man doch wohl erwarten dürfte, daß die Kahmhautzellen 2. Generation in üppigster Weise in die Gelatine hineinwachsen und dort rhizoidartige Anhänge bilden würden". An den von mir hergestellten Kulturen zeigte sich deutlich, daß in Kolonieen auf Nährmedien, die mit sehr altem Bier hergestellt wurden, diese Bildung von Mycelzellen oder rhizoidartigen Anhängen stark begünstigt wurde.

Außer der Anhäufung von Stoffwechselprodukten gibt es eine andere Bedingung, durch welche die Bildung von Mycelzellen in den Kolonieen noch nachhaltiger gefördert wird. Es ist dies die Einwirkung des Lichtes. Wie die aus kraftvoll entwickelten Zellen bestehenden konzentrischen Ringe der Oberflächenkolonieen durch Lichtwirkung hervorgerufen werden, so beruht die Bildung konzentrischer Mycelkreise im Substrat auf der gleichen Wirkung.

Unter den Bierhefen der Praxis gibt es eine ganze Reihe, die Oberflächenkolonieen mit konzentrischen glatten oder gefalteten Zonen bilden. Bei genauerer Beobachtung findet man, daß z. B. Sacch. cerevisiae Lindner 86 auf Würzeagar im Laufe von 3—4 Tagen zu einer glatten, erhabenen Kolonie auswächst, an die sich im weiteren Verlauf des Wachstums täglich eine Zone nach außen anlegt. Eine ähnliche Zonenbildung beobachtet man, wie schon oben erwähnt, sehr deutlich an den Kolonieen der Schimmelpilze, und es lag nahe, sie bei den Hefekolonieen aus denselben Einflüssen zu erklären, wie es bei den Schimmelpilzkolonieen geschah.

Wie sie zustande kommen, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden, da es mehrere Möglichkeiten gibt:

1) könnten sie durch regelmäßig wiederkehrende Wachstums- und Ruheperioden der Oberflächenzellen verursacht sein;

2) käme die von Lindner aufgestellte Ansicht, daß die Hefe am Grunde der Kolonie gewissermaßen sprungweise vorgeht, in Betracht;

3) wäre es möglich, daß die Kolonie sich zunächst von der Impfstelle aus bis zu einer bestimmten Grenze ausdehnt, und daß dann weiter ein aus langgestreckten Zellen bestehendes Mycel auftritt, das die Zonenerscheinung hervorbringt.

Der erste Fall trifft, wie wir gesehen haben, sehr wahrscheinlich für Bac. subtilis zu, und es war daher zu vermuten, daß, weil die Hefe im Dunkeln besser als im Licht wächst, die Zonen des stärkeren Wachstums sich während der Zeit bildeten, während der die Kultur im Dunkeln stand. Diese Ansicht hegte ich lange Zeit, mußte sie aber schließlich doch aufgeben.

Allgemein verbreitet ist die zweite Ansicht, nach welcher die bis zu einem gewissen Grade entwickelte Kolonie anfängt, Mycel auszusenden, das aus dem Nährboden zur Oberfläche emporwächst und immer wieder neue, weiter vom Zentrum abliegende Zonen bildet. Man sollte daher erwarten, daß sich das Mycel in einem Schnitte durch die Kolonie als eine wellenförmig gebogene Linie darstellte (siehe Fig. 7), was aber nicht der Fall ist. Nach der dritten Ansicht nimmt man an, daß das Wachstum der Kolonieen an der Oberfläche Tag und Nacht annähernd gleich schnell erfolgt, daß aber am Tage unter dem Einfluß des Lichtes langgestreckte Zellen und Mycelfäden im unteren Teile der Kolonie entstehen, durch welche Zonen erzeugt werden.

Da diese langgestreckten Zellen allmählich ihrer Hauptachse nach

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in senkrechte Lage kommen, so wäre es wohl möglich, daß sie beim Weiterwachsen die obersten Zellschichten der Kolonie heben, und dadurch im Oberflächenbelag das Auftreten konzentrischer, etwas über die Oberfläche emporragender Ringe veranlassen.

Daß solche Vorgänge wirklich stattfinden, wurde an den Kolonieen von Saccharomyces und Mycoderma nachgewiesen. Ein weiterer Beweis liegt darin, daß Mycelbildung in Plattenkulturen von Saccharomyces- und Mycoderma-Arten, die im Dunkeln wachsen, ganz ausbleibt.

Daß andere Saccharomyces-Arten, wie z. B. Frohberg-Hefe, weder im Dunkeln noch im Lichte Mycel bilden, erklärt sich aus der gänzlichen Unempfindlichkeit dieser Arten gegen Licht.

## 3. Die Kolonieen der Schimmelpilze.

Ich beschäftigte mich verschiedentlich auch mit Kolonieen von Schimmelpilzen. Da ich aber beim Präparieren auf Schwierigkeiten stieß und da ich bald sah, daß das Studium dieser Kolonieen sich weit weniger einfach gestaltete, als ich erwartet hatte, entschloß ich mich, vorläufig davon abzusehen und es vielleicht später aufzunehmen. Ich bekam die besten Präparate aus Schimmelkolonieen durch Härtung mit Formalindämpfen, nachfolgendes Bespritzen mit Aether und Alkohol und Uebergießen mit geschmolzenem Agar. Es ließen sich aber Schnitte der Kolonieen von Schimmelpilzen nach dieser Vorbereitung lange nicht in der Vollkommenheit herstellen, wie bei Bakterien und Hefen. Stets fanden sich kleine Luftbläschen zwischen den zwei Agarschichten, die das Präparat verdarben und namentlich die ursprüngliche Anordnung der Sporenträger nicht mehr erkennen ließen.

### Kolonieen von Oidium lactis.

Die Kolonieen dieses Organismus sind auf Agar weißlich-grauschimmernde und je nach der Varietät gar nicht oder kaum über die Oberfläche des Nährbodens emporragende, oft filzig aussehende Gebilde.

An den Kolonieen, die unter dem wechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit oder unter dem Einfluß von Temperaturwechsel gewachsen sind, kann man regelmäßige Zonen beobachten (vgl. Fig. 17, Taf. II und Fig. 18, Taf. IV). Um die Entstehung dieser Zonen näher zu studieren, wurden Schnitte von den Kolonieen gemacht, deren Betrachtung zu folgenden Ergebnissen führte:

Auf der Oberfläche des Nährbodens erkennt man erhabene, regelmäßig angeordnete Massen von Konidien (vgl. Fig. 18), die am höchsten in der Mitte, d. h. im ältesten Teil der Kolonie sind und nach außen hin an Größe abnehmen.

Die Konidien haben hervortretende, aber nicht scharfe, sondern abgerundete Kanten und sind $3 \times 4\frac{1}{2}\ \mu$ groß. Vakuolen kommen verhältnismäßig selten vor und die Zellen sind mit einem körnigen Inhalt angefüllt. In den Zonen der Konidien kommen an der Oberfläche auch Riesenzellen von unregelmäßiger Form vor. Sie haben eine dicke Haut und lassen von einem Zellinhalte nichts erkennen. (Größe $8 \times 9\ \mu$.)

Direkt unter der Oberfläche und im Agar eingebettet liegen lange Ketten von scharfkantigen Konidien, deren Größe ca. $6 \times 4\ \mu$ beträgt In Bezug auf Zellinhalt und Vakuolen zeigen sie große Aehnlichkeit mi den Zellen der Oberfläche.

Noch tiefer im Nährboden erkennt man lange, dicke Mycelfäden,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welche aus Zellen von $5 \times 110\ \mu$ Größe bestehen. Sie scheinen ihren Ursprung in den zentralen oberen Schichten des Agars zu haben, gerade unter dem Zentrum der Oberflächenkolonie. Es ist mir bis jetzt nicht gelungen, Zwischenformen zu entdecken, aus denen sich die Bildung der Konidien aus den Mycelfäden schließen ließe. Sie wachsen vom Mittelpunkt der Kolonie aus nach auswärts und unten bis zu einer Tiefe von ungefähr $^2/_3$ der Dicke der Agarschicht.

Hin und wieder schicken sie dünne Mycelfäden in eigenartigen Verzweigungen nach oben und nach aussen, die, sobald sie in die Nähe der Oberfläche kommen, gewöhnlich in Konidien zerfallen, und, wenn sie bis auf die Oberfläche vordringen, dort zu den schon erwähnten erhabenen Massen auswachsen.

Zuweilen zerfallen die tief im Substrat liegenden Mycelfäden ebenfalls in Konidien. Diese Konidien sind jedoch nicht nur nach Größe, sondern auch nach ihrem Zellinhalt von den Konidien der Oberflächenkolonie verschieden. Sie sind länger und dünner, ihre Größe beträgt $7 \times 2{,}5\ \mu$, sie besitzen meistenteils 2 oder 4 Vakuolen und ihr Zellinhalt ist frei von Körnern.

Da die meisten Zellfäden nach oben gerichtet sind, wenn sie in Konidien zerfallen, so scheint es, als ob die Bildung der Konidien aus den Mycelfäden unter dem Einfluß des Lichtes erfolge. Wodurch das Emporwachsen der Mycelfäden an die Oberfläche veranlaßt wird, konnte ich noch nicht ermitteln. Auch für das Vorkommen von Riesenzellen in den Oberflächenhaufen fehlt es noch an einer Erklärung.

### Die Kolonieen eines Mycoderma-ähnlichen Organismus.

Der Organismus, mit dessen Kolonieen ich mich beschäftigte, hat große Aehnlichkeit mit Mycoderma rubrum (Lasché). Er unterscheidet sich von diesem jedoch durch seine Fähigkeit, Farbstoffe zu bilden. Er erzeugt nämlich im Licht einen tiefroten Farbstoff. Im Dunkel unterbleibt die Farbstoffbildung gänzlich.

Schon eine kurze, etwa 2 Minuten währende Belichtung reicht hin, um in einer vorher im Dunkeln gewachsenen Kultur nicht nur die Farbstoffbildung hervorzurufen, sondern auch die Wachstumsform völlig umzuändern.

Während im Dunkeln das Mycel sich sehr stark vermehrt, die Sprossung aber gänzlich oder beinahe gänzlich unterbleibt, beginnt diese unter dem Einfluß des Lichtes sehr energisch. Dabei tritt bei abwechselnder Einwirkung von Licht und Dunkelheit Zonenbildung ein.

Ein Schnitt durch eine solche Kolonie zeigt an der Oberfläche des Agars eine Reihe unregelmäßiger Haufen von Zellen (vgl. Fig. 17, Taf. IV), die in der Mitte der Oberfläche zusammengewachsen und dicker sind als die gegen den Rand hin wachsenden. Sie bestehen aus Zellen von $4 \times 4\ \mu$, die sich, weil sie in eine gelatinöse Masse eingebettet sind, nur sehr schwer untersuchen lassen. Sie scheinen keinen differenzierten Inhalt zu haben und auch frei von Vakuolen zu sein.

Im Substrat findet man Fäden aus langgestreckten, sehr dünnen Zellen ($7 \times 1{,}5\ \mu$) bestehend, die hin und wieder Sprossungen von traubenförmigen Massen aussenden. Viele Zellen dieser Mycelfäden wachsen nach der Oberfläche und tragen hier, wie es scheint, durch ihre weitere Vermehrung zur Vergrößerung der Oberflächenkolonie bei.

Auch die Mycelzellen, welche nicht an die Oberfläche gelangen, treiben Sprossungen, die der Mehrzahl nach unter der Oberfläche des

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährbodens liegen. Da ich jedoch viele Abweichungen beobachtete, wage ich es noch nicht, bestimmte Behauptungen über die Wachstumsvorgänge aufzustellen.

## Schluß.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

### Form der Kolonieen.

1) Die große Aehnlichkeit der Form der tiefliegenden, d. h. völlig im Nährmedium eingeschlossenen Kolonieen mit Hohlräumen, die durch Gase gebildet werden, oder mit der Gestalt freischwebender Flüssigkeitstropfen macht es wahrscheinlich, daß bei der Bildung der Gestalt der Kolonieen dieselben Kräfte tätig sind, welche den Gasblasen ihre Gestalt verleihen, und daß die Gestaltung der Kolonieen sowohl als auch der Gasblasen, unter dem Einfluß gewisser physikalischer Eigenschaften des Nährmediums, namentlich dessen Elastizität, Kohäsion und Oberflächenspannung steht.

2) Für die Gestaltung der Oberflächenkolonieen kommt vor allem das Maß der Adhäsion zwischen den wachsenden Zellen und der Oberfläche des Nährbodens, sowie die Wirkung der an der Oberfläche des Nährbodens stets vorhandenen kleinen Unebenheiten in Betracht. Die Unebenheiten bilden Widerstände, welche die Ausbreitung der Kolonie erschweren. Hierdurch wird eine Verschiebung der sich vermehrenden Zellen gegeneinander und übereinander bewirkt.

Beide Umstände führen in ihrem Zusammenwirken zu einer kreisrunden Form der Kolonie, die um so vollkommener auftritt, je gleichmäßiger der Nährboden in seiner ganzen Ausdehnung beschaffen ist.

3) Ist das Wachstum der Organismen mit Absonderung von Schleim verbunden, so hat dieses zur Folge, daß die Kolonieen eine annähernd kugelförmige Gestalt annehmen und ein glänzendes Aussehen erhalten. Beispiele hierfür sind die Kolonieen von Micrococcus a (Schöne), Leuconostoc, Torula-Arten u. s. w.

4) Dadurch, daß die meisten Zellen in der Mitte einer Kolonie bald an Wachstumsenergie einbüßen oder ganz absterben, während die Zellen am äußeren Rande ungestört fortwachsen können, wird das Entstehen flacher Oberflächenkolonieen bedingt. Wenn die Kolonieen gewisser Organismen, namentlich die mancher Hefen, eine größere Dicke aufweisen, so wird dies vermutlich durch die besondere Gestalt und Lage der einzelnen Stellen in der Kolonie bedingt.

5) Durch zahlreiche Versuche mit verschiedenen Organismen bei verschiedenen langen Wachstumsperioden wurde bewiesen, daß die Bakterien die Fähigkeit haben, Wasser aus dem umgebenden Nährboden anzuziehen, oder durch Verbrennung organischer Stoffe zu erzeugen.

6) Auch dieses Wasser hat Einfluß auf die Form der Kolonie insofern, als es entweder die Bewegung der Bakterien über die ganze Oberfläche der Kolonie und vor allem am Rande längere Zeit ermöglicht.

7) Die Konzentration des Nährbodens scheint einen doppelten Einfluß auf die Form der Kolonieen auszuüben, indem von ihr a) die Konsistenz und der Wassergehalt des Nährbodens und b) die Fähigkeit des Nährbodens, beim Zusammenziehen mehr oder weniger Wasser auszupressen, abhängt.

8) Für die Gestalt der Schwimmkolonieen gilt dasselbe, was unter

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1 zu der Gestalt der ganz im Nährboden eingebetteten Kolonieen bemerkt wurde.

9) Eine sehr große Anzahl verschiedener Organismen ist empfindlich für Lichtwirkung. Die Lichtwirkung wird durch die Anwesenheit von Luft oder Sauerstoff verstärkt und tritt dadurch in Erscheinung, daß sie Aenderungen im Wachstum bei der Kolonieenbildung und in der Fähigkeit der Farbstoffproduktion hervorbringt. Schon das diffuse Tageslicht genügt, um an den Kolonieen vieler Bakterien, Hefen und Schimmelpilze gewisse kennzeichnende Erscheinungen, z. B. die Bildung regelmäßiger konzentrischer Zonen hervorzurufen.

10) Neben dem Licht scheint auch die Temperatur das Aussehen der Kolonieen zu beeinflussen. Die Wirkung der Temperatur geht jedoch nicht so tief wie die des Lichtes. Während nämlich die Temperatur lediglich graduellen Wechsel in der Intensität der Zellfunktionen hervorruft, ist das Licht im stande, unmittelbar morphologische und physiologische Veränderungen der Zellen zu bewirken.

## Struktur der Kolonieen.

1) Die Kolonieen der niederen Organismen weisen einen bestimmten Bau insofern auf, als die einzelnen Zellen in den verschiedenen Teilen einer Kolonie nicht nur eine gewisse regelmäßige Anordnung erkennen lassen, sondern sich auch durch ihre Form und den Gehalt an Zellplasma unterscheiden.

2) Bei den Bakterienkolonieen finden wir das lebhafteste Wachstum am äußeren Rande der Kolonieen und hier haben auch die Zellen ihre normale Größe. Im Zentrum und in den mittleren Schichten der Kolonieen sind die meisten Zellen abgestorben und haben Involutionsformen angenommen. Sporenbildung scheint an der Oberfläche lebhafter zu erfolgen als in anderen Teilen der Kolonieen.

3) Bei den Hefen ist die Struktur der Kolonieen mannigfaltiger und komplizierter, als bei den Bakterien. Die Differenzierung der Zellen in verschiedenen Teilen der Kolonieen tritt stärker hervor, und die Kolonieen zeigen eine sehr regelmäßige Anordnung.

4) An der Oberfläche der Kolonie wachsen rundliche oder ovale Zellen, unmittelbar auf dem Substrat sind sie langgestreckt und dünn und je nach der Hefeart und den Kulturbedingungen wird im Substrat bald ein starkes Mycelsystem gebildet, bald fehlt es gänzlich. Daß dieses Mycelsystem bei allen bis jetzt untersuchten, im Dunkeln gewachsenen Hefekulturen fehlt, bei vielen am Licht gewachsenen Kulturen aber hervortritt, muß auf besondere Empfindlichkeit einzelner Hefearten gegen Licht geschlossen werden. Mycel wird stärker in alten Kulturen gebildet, d. h. in Nährböden, die reich an Stoffwechselprodukten sind.

4) In keiner der untersuchten Kulturen waren Spuren einer von verschiedenen Autoren behaupteten Arbeitsteilung nachzuweisen.

5) Die Struktur der Kolonieen von Schimmelpilzen ist noch wenig untersucht, da man bei der Herstellung von Schnitten solcher Kulturen auf Schwierigkeiten stößt, die zu überwinden bis jetzt noch nicht gelungen ist.

Herrn Geheimrat Fleischmann, in dessen Laboratorium diese Arbeit gemacht wurde, sowie Herrn Prof. Berthold und Herrn Dr. Rahn, die mich mit wertvollen Ratschlägen unterstützten, spreche ich meinen besten Dank aus.

Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

**Literatur.**


1) Münden, Beiträge zur Cytoblastenfrage. (a) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1896 u. 1897. b) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V.)
2) Serkowski, St., Ueber den Bau der Bakterienkolonieen. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. 1901.)
3) Axelrad, Cäsar, Ueber Morphologie der Kolonieen pathogener Bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.)
4) Flügge, Die Mikroorganismen. (Charakter d. Bakt. Bd. I. 1896. p. 129.)
5) Gotschlich, in Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. 1904.
6) Jendrassik, Ueber geometrisch regelmäßige Bakterienkolonieen. (Ref. Kochs Jahresber. 1891. p. 43.)
7) Gotschlich, Aetiologie der Mikroorganismen. (Flügge, Mikroorganismen. 1896.)
8) Hansen, Emil Chr., Bot. Centralbl. Bd. XXI. 1885. p. 181.
9) Will, H., Zeitschr. f. ges. Brauwesen. Bd. XX. 1897. p. 447.
10) Ficker, Ueber Wachstumsgeschwindigkeit des Bact. coli commune. Inaug.-Diss. Leipzig 1894.
11) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. p. 167.
11a) —, Ebenda p. 205.
12) Bremer, Inaug.-Diss. Münster 1902.
13) Dunham, ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. p. 382.
14) Rosenthal, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LV.
15) Kny, Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. II. 1884. p. 129.
16) Lohmann, Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellbildung bei Saccharomyces cerevisiae und anderen Hefen. Diss. Rostock 1896.
17) Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.
18) Milburn, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. Inaug.-Diss. Halle 1904.
19) Oudemann, A. et Koning, C., Arch. Néerlandaises des sciences exact. et natur. 1903.
20) Fischl, Fortschr. d. Med. Bd. XX. 1887.
21) Neisser, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. 1888.
22) Jacobi, Ebenda.
23) Hardy, Journ of Physiol. Vol. XXIV. 1899.
24) Pick, Berlin. klin. Wochenschr. 1901.
25) Kellermann, Journ. of applied Microscopy. Vol. V. 1902.
26) Gotschlich, in Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. 1904. p. 70.
27) —, Ebenda p. 43.
28) Will, Zeitschr. ges. Brauwesen, ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I—XIII.
29) —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II.
30) —, Ebenda Bd. V. 1899. p. 769.
31) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. 1903.
32) Will, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 135.
33) —, Ebenda Bd. IX. 1902. p. 139.
34) —, Ebenda Bd. V. 1899. p. 772.
35) —, Ebenda Bd. XIV. 1905. p. 130.
36) Mazé et Pacottet, Récherches sur les ferments des maladies des vins. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 244.)
37) Preisz, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. p. 280.
38) Saul, Berlin. klin. Wochenschr. 1900. No 47.


---

**Tafelerklärung.**

Fig. 1. Schnitt durch eine tiefliegende Kolonie von Bac. lactis albus.

Fig. 2—3. Einfluß der Konzentration des Nährbodens auf die Form der Kolonieen. Kulturen von Bac. pseudoramosus.) Fig. 2: 1,5-proz. Agar. Fig. 3: 4-proz. Agar.

Fig. 4—5. Kolonieen, die eine radiäre Anordnung zeigen. Fig. 4: Bac. subtilis. Fig. 5: Bact. coli.

Fig. 6. Penicillium glaucum, Kolonie mit konzentrischen Zonen von Sporenträgern.

Fig. 7—8. Oidium lactis. Fig. 7: Bei Wechsel von Licht und Dunkelheit. Fig. 8: Dunkelheit und konstante Temperatur.

Fig. 9—10. Schleimbildende Torula. Fig. 9: Entstehung der Kolonieen, Fig. 10: Feinere Struktur der Kolonieen.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 11. Bac. subtilis-Kolonie. Schnitt.
Fig. 12. Bac. megatherium-Kolonie. Schnitt.
Fig. 13—14. Saccharomyces-Kolonie (Linder 86). Schnitt. Fig. 13 oben, Fig. 14 unten.
Fig. 15—16. Frohberg-Hefe-Kolonie. Schnitt. Fig. 15 oben, Fig. 16 unten.
Fig. 17. Mycoderma-ähnlicher Organismus. Kolonie. Schnitt.
Fig. 18. Oidium lactis-Kolonie. Schnitt.

---

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Farbe des Belages anfangs milchweiß, später gelblichweiß bis gelbbräunlich, anfangs matt-glänzend; auf Kartoffelwassergelatine Randpartie graublau, die hoch erhobene Kräuselung gelbbraun.

Belag zähe, läßt sich mit glatten Rändern durchschneiden, später, nach dem Absterben der Zellen in der Randpartie, weich; Kräuselungen fest, schwer im Wassertropfen zu verteilen; auf Kartoffelwassergelatine Belag wachsartig.

Riesenkolonie löst sich leicht von der Unterlage ab, in die sie mehrere Millimeter tief hineingewachsen ist. Die Gelatineschicht erscheint jedoch nicht gleichmäßig von Zellen durchsetzt, sondern von ungleichmäßig verteilten Büscheln von solchen, die nach dem Abheben der Kolonie im Querschnitt hervortreten. Ebenso wie also auf der Oberseite eine weitere Ausbildung stattfindet, so vollzieht sich eine solche auch auf der Unterseite, indem hier die in die Gelatine hineingewachsenen Zellen, ähnlich wie die rhizoidengleichen Anhänge der unter- und obergärigen Bierhefen, zu größeren Komplexen zusammentreten.

Anatomie: In der glatten, flachen Randpartie an der Oberfläche ausschließlich kugelförmige und ellipsoidische Zellen von sehr verschiedener Größe, darunter typische Torula-Zellen mit einem kleinen Oelkörperchen und häufig mit einem Kristalloid in der Vakuole. Riesenzellen; an der äußersten Randzone auch gestreckt-ellipsoidische Zellen. In den tieferen Partieen des Belages neben diesen Zellen auch derbe, langgestreckte, zuweilen schon zu Bündeln vereinigte Zellen, welche, wie bei den vorhergehenden Arten, auf der Unterseite der Kolonie noch häufiger und kräftiger werden; sie enthalten größere Kristalloide in den Vakuolen.

Die zentrale Partie setzt sich hauptsächlich aus langen, dünnen Zellen, zwischen welchen sich kugelförmige und ellipsoidische befinden, zusammen. Damit erklärt sich auch das Auftreten der Kräuselungen gerade an dieser Stelle. Die Kräuselungen enthalten zwar sehr zahlreiche, fest zusammenhängende Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen, überwiegend sind jedoch kugelförmige, ellipsoidische und gestreckt-ellipsoidische mit einem Oelkörperchen, wie typische Torula-Zellen, welche

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von den langgestreckten Zellen in sehr großer Zahl erzeugt werden. Anscheinend handelt es sich bei den Torula-Zellen um eine besondere, den übrigen nicht gleichwertige Zellform, deren umfangreiche Entwickelung durch bestimmte, in den späteren Entwickelungsstadien der Kolonie gegebene Bedingungen verursacht wird. Auch die feinen Kräuselungen der Randpartie bestehen aus solchen Zellen von sehr kräftiger Beschaffenheit.

Die Gelatineschicht unter der flachen Randpartie enthält, wie diese, sehr kräftige kugelförmige Zellen, während unter der zentralen Partie Sproßverbände wurstförmiger Zellen zahlreicher sind.

No. 2. Riesenkolonieen auf dem Höhepunkt der Entwickelung ungemein üppig und zierlich; sehr charakteristische Wachstumsform. Entwickelung vorherrschend in die Höhe. Oberfläche auf allen Nährböden anfangs mehr oder weniger glatt, gekörnt oder warzig. Randpartie radial gestreift, mit stromähnlichen, in verschiedenem Grade ausgeprägten Bildungen.

Randlinie mehr oder minder regelmäßig, schwach gebuchtet. Früher oder später entstehen, mit Kraterbildung beginnend, überall auf der Oberfläche der Kolonie meist grobe Kräuselungen, die auf Kartoffelwasser- und Rübenwassergelatine am üppigsten, oft bis zu einer Höhe von 3—4 mm zur Entfaltung kommen. Ihre Oberfläche ist mit langen, schon makroskopisch sichtbaren „Zotten" bedeckt. Einzelne Partien der Oberfläche können frei von Kräuselung bleiben, zuweilen sogar in sehr großer Ausdehnung. Die Kräuselung tritt dann zurück und die stromartige Ausbildung der Randpartie mehr hervor. In Parallelkulturen Entwickelung zuweilen graduell verschieden; im wesentlichen stimmen die Riesenkolonieen auf allen geprüften Nährböden überein.

Belag sehr fest; die Kräuselungen brüchig; lassen sich jedoch leicht schneiden.

Kolonie auf der Unterseite nicht glatt, besitzt jedoch hier keine ausgesprochenen Zotten; sie ist höckerig. Löst sich leicht von der Unterlage ab.

Farbe der gekräuselten Partie zitronengelb bis gelblich-braun, der glatten, milchweiß bis grauweiß, mattglänzend.

Unterhalb des Belages ist die Gelatine in einer Breite von 3—4 mm, nach den Rändern hin abnehmend, trübe; der untere Rand der Trübung ausgefranst.

Anatomie: Die Kräuselungen bestehen vorherrschend aus gestreckten, wurstförmigen Zellen, zwischen welchen sich jedoch auch bald mehr bald weniger kugelförmige und gestreckt-ellipsoidische befinden. Die langgestreckten Stammglieder der Sproßverbände, welche, soweit die Beobachtungen reichen, niemals ein echtes Mycel bilden, erzeugen an ihren beiden Enden kleinere, kugelförmige und elipsoidische Torula-Zellen (auch Riesenzellen). Je nach der erzeugten Menge dieser Zellen treten die langgestreckten Stammglieder mehr hervor oder zurück. Es geht dies so weit, daß die langgestreckten Zellen an einzelnen Stellen fast ganz in den Hintergrund treten. Primär ist also die Entwickelung der Sproßverbände langgestreckter Zellen die Ursache der Kräuselung. Die ganze, hochgewachsene zentrale Partie setzt sich nur aus gekräuselten bezw. von Hohlräumen durchsetzten Zellenmassen zusammen.

Die Zotten bestehen aus konischen, dichten Büscheln von Sproßverbänden gestreckt-ellipsoidischer und wurstförmiger Zellen, auf welchen sich auch mehr oder weniger rundliche abgelagert finden.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die inneren Schichten der Randpartie bestehen fast ausschließlich aus sehr langgestreckten, wurstförmigen Zellen von sehr verschiedener Länge und Dicke. Nicht selten fallen infolge ihrer Größenverhältnisse nach Länge und Breite kräftige, an Glykogen reiche Zellen auf. Doppeltbrechende Kristalloide in den Vakuolen. In den obersten Schichten treten die langgestreckten Zellen zurück und herrschen gedrungenere Zellformen mit einem Oelkörperchen vor und zwar in dem Maße, daß sie fast ausschließlich vorhanden sind. Es scheint also in gleicher Weise wie bei den Riesenkolonieen der Saccharomyceten der Belag aus verschiedenen Schichten mit verschiedenen Zellformen zusammengesetzt zu sein. Wenn auch nicht so deutlich wie bei jenen, ist eine Rinden- und eine Markschicht ausgebildet.

Die Höcker auf der Unterseite der Kolonie bestehen aus ungemein kräftigen (sie gleichen fast den Zellen in den rhizoidengleichen Anhängen der Saccharomyceten), wurstförmigen Zellen, wie sie sich schon in geringer Zahl in der Markschicht der Randpartie finden.

In der trüben Gelatineschicht sind fast ausschließlich Sproßverbände derber, kräftiger (sehr glykogenreich) Zellen mit doppelt brechenden Kristalloiden vorhanden. Gedrungenere Zellformen sind verhältnismäßig selten. Im Gegensatz zu den Kräuselungen und den Zotten an der Oberfläche der Kolonie ist also die Erzeugung von Torula-Zellen bedeutend herabgemindert.

Wie auch bei den Riesenkolonieen von anderen der vorliegenden Organismen, sind die Dimensionen der Zellen des Oberflächenbelages durchschnittlich kleiner als diejenigen der in die Gelatine hineingewachsenen Zellen.

No. 15. Sehr rasche und starke Hautbildung fällt hier wieder mit einer charakteristischen Wachstumsform der Riesenkolonieen zusammen. Im Gegensatz zu No. 2 zeigen sie diese schon beim Beginn des Wachstums, allerdings mit gradueller Verschiedenheit auf allen Nährböden. Die Form und Oberflächengestaltung der Kolonieen ist eine ungemein zierliche.

Oberfläche der stark in die Höhe (2—3 mm) gewachsenen Kolonieen fein gefaltet; zentrale Partie flach, die Randpartie durch tiefe, radiale Furchen stromartig („gelappte Ströme") geteilt; die äußerste Randzone steil abfallend. Randlinie meist sehr unregelmäßig. Oberfläche der Faltungen wie fein bereift oder kreidig bestäubt, Zottenbildung nur schwach (Rübenwassergelatine). Auf Kartoffelwassergelatine Riesenkolonieen kompakter. Der allgemeine Wachstumscharakter wie auf Würze- und Rübenwassergelatine („Strombildung") ist angedeutet, jedoch die Faltung der Oberfläche nur gering; diese erscheint fast glatt. Bei niederer Temperatur Kolonieen regelmäßiger; flacher auf Kartoffel- und Rübenwassergelatine; „Ströme" fehlen. Faltungen auf Kartoffelwassergelatine noch geringer, beschränken sich teilweise auf einzelne Höcker. Auf Rübenwassergelatine Kolonieen in Form eines flachen Kegels. Oberfläche wie auf Würzegelatine gefaltet.

Farbe des Belages gelblichweiß bis hellgelbbräunlich, matt, trocken. Belag löst sich leicht von der Unterlage ab, Konsistenz weich, läßt sich jedoch anfangs noch mit glatten Rändern durchschneiden.

Unterseite der Kolonieen mit zahlreichen warzigen bis traubenförmigen Zotten, die vom Rand bis in die zentrale Partie verteilt sind, in die Gelatine hineingewachsen. Die Länge der Zotten, welche unterhalb der zentralen Partie bis zu 4 mm lang werden, nimmt nach dem

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Rande der Kolonie ab. Kolonieen auf Kartoffelwasser- und Rübenwassergelatine bei niederer Temperatur von der Unterseite her zwar mehrere Millimeter tief in die Gelatine hineingewachsen, jedoch kommt es hier höchstens zur Ausbildung kleiner Höcker.

Anatomie: Das Innere der Kolonieen baut sich, wie die Entwickelung und Schnitte ergeben, nur aus Faltungen auf; Vertikalschnitte zeigen deshalb eine schwammige Beschaffenheit, Querschnitte erscheinen wie marmoriert. Lufteinschlüsse. Zellen der äußersten Schicht des Belages gedrungener, mit scharf hervortretendem Oelkörperchen, wie typische Torula-Zellen. In den Faltungen der zentralen Partie herrschen kugelförmige und kurz ellipsoidische Zellen vor. Wurstförmige Zellen sind zwar vorhanden, treten jedoch in den Hintergrund. Die tieferen Schichten der zentralen Partie bestehen vorherrschend, in einzelnen Präparaten fast ausschließlich aus Sproßverbänden langestreckter Zellen. Randpartie in ähnlicher Weise wie die zentrale zusammengesetzt, jedoch herrschen hier die wurstförmigen vor. Die Zotten der Unterseite, die rhizoidengleichen Anhänge, sind vorherrschend, teilweise fast ausschließlich aus Bündeln von Sproßverbänden langgestreckter Zellen aufgebaut, welche in der Hauptsache in der gleichen Richtung verlaufen. Bei mangelnder Zottenbildung sind die Kolonieen mit Sproßverbänden derber wurstförmiger Zellen, welche zuweilen Birnen- und Spindelform annehmen, in die Gelatine hineingewachsen. Niemals typisches Mycel.

No. 16. Die Riesenkolonie ist derjenigen von No. 12 und 15 ähnlich, unterscheidet sich jedoch wesentlich von diesen durch die schon anfangs viel gröberen Faltungen der Oberfläche. Wenn auch zuweilen scheinbar Abweichungen in der Wachstumsform vorkommen, so stehen nur graduelle Verschiedenheiten in Frage; im allgemeinen stimmen die Kolonieen auf allen geprüften Nährböden bei den verschiedenen Temperaturen gut überein. Bemerkt sei, daß dies auch für Agarnährböden, welche gelegentlich angewendet wurden, zutrifft[1]). Diese Nährböden waren aus einer Würze von 14,2 Proz. B. einmal durch Zusatz von 4 Proz. Agar und ferner durch Zusatz von 2 Proz. Agar zusammen mit 3 Proz. Gelatine hergestellt worden.

Der 1—2 mm dicke Belag zeigt anfangs grobe, radial verlaufende Falten, die auf der Randpartie gegabelt sind. Später werden die Faltungen immer reichlicher und feiner und kommen auch im Verlauf der groben, radial verlaufenden Falten scharf ausgeprägte, stromähnliche Bildungen zu stande. Zentrale Partie sehr fein gefaltet, tief eingesenkt mit deutlicher Wallbildung. Faltungen der Randpartie zuweilen spärlich mit Zotten bedeckt, die anscheinend sehr hinfällig sind. Wenn der Rand der Kolonie in die Gelatine eingesenkt ist (Rübenwassergelatine), erscheint er durch zahlreiche mehr oder weniger isolierte Sproßverbände wie behaart. Randlinie unregelmäßig, eckig.

Farbe lichtgelbbraun bis dunkelbraun; auf Agar und Agargelatine dunkel schokoladebraun; im Innern der Kolonie ist die Färbung heller. Belag käsig, bröcklich, läßt sich sehr gut mit glatten Rändern durchschneiden, verteilt sich jedoch sehr schwer im Wassertropfen.

Der Belag ist ähnlich wie bei No. 15 durch und durch gefaltet. Löst sich leicht und glatt von der Unterlage ab, deren Oberfläche einen

1) Vergl. hierzu H. Will, Vergleichende Untersuchungen an 4 untergärigen Arten von Bierhefe. VI. Wachstumsform der 4 Hefen auf festen Nährböden. C. Wachstumsform der Riesenkolonieen auf Würzeagar und Würzeagargelatine. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. p. 578.

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutlichen und scharfen Abdruck der Faltungen des Belages wiedergibt. Unterseite der Kolonie ohne Anhänge, höchstens an der zentralen Partie grobwarzig, jedoch ist die der Kolonie zunächst liegende Gelatineschicht in einer Tiefe von 3—4 mm durch hineingewachsene Zellen getrübt.

Zuweilen besteht die Kolonie, insbesondere auf Kartoffelwassergelatine, zunächst aus einem glatten Belag, dessen Randpartie ziemlich scharf abgesetzt und deutlich gestreift ist. Die Randlinie verläuft fast regelmäßig. Die Oberfläche der zentralen Partie ist feinwarzig bis gefaltet. Später greifen dann, von der zentralen Partie ausgehend, zahlreiche stromartige Faltungen bis zur Randpartie aus und nähert sich die Wachstumsform mehr und mehr der normalen. Zuweilen tritt jedoch eine Hemmung in der Weiterentwickelung ein: die Kolonie zeigt ein doppeltes Gesicht. Der eine Teil ist noch glatt, ohne Faltungen, während der andere reichlich gefaltet ist. Die Faltungen sinken später in sich zusammen und es bedecken zahlreiche warzige Erhebungen die Oberfläche der Kolonie.

Anatomie: Faltungen im Innern der Kolonie vorherrschend aus Sproßverbänden langgestreckter Zellen, die Oberfläche dagegen vorherrschend aus gedrungneren Zellen zusammengesetzt. Normal befindet sich in den kugelförmigen bis ellipsoidischen Zellen ein kleines Oelkörperchen im Plasma und ein Kristalloid in der Vakuole. Weiter nach der Unterseite der ganzen Kolonie treten die Sproßverbände langgestreckter Zellen wie gewöhnlich immer mehr in den Vordergrund und sind auf der Unterseite selbst und in der unterhalb der Kolonie liegenden Gelatineschicht nahezu ausschließlich vorhanden. Die reihenweise im Belag angeordneten Sproßverbände langgestreckter Zellen sind dicht bedeckt von kugelförmigen und ellipsoidischen Tochterzellen, in die Gelatine wachsen sie in Büscheln wenig verzweigter Sproßverbände, welche aus sehr langen Einzelgliedern bestehen und auch von gedrungeneren Zellen in verschiedenem Grade bedeckt sind, hinein. In diesen breiten und kräftigen Zellen enthalten die Vakuolen meist ein doppeltbrechendes Kristalloid (oft stäbchenförmig) oder Konglomerate von solchen. Ein typisches Mycel wurde niemals beobachtet.

Das richtige Verständnis für das Zellengemisch erhält man durch die haarförmigen, konischen Gebilde („Zotten“) am Rand der Kolonie, welche sich sehr leicht frei von Zellen des Oberflächenbelages entnehmen lassen. Die Zotten bestehen aus sehr langen Sproßverbänden wurstförmiger Stammglieder, welche nur selten mit ebensolchen verzweigt sind. Die Stammglieder, welche häufig sehr lang sind, werden, soweit beobachtet, immer nur durch schmale Wände voneinander getrennt. Mycelbildung wie bei Monilia ist also nicht vorhanden. In der Regel sprossen an der Stelle, an welcher zwei Stammglieder aneinanderstoßen, reichlich Verbände kugelförmiger und ellipsoidischer Zellen mit einem kleinen Oelkörperchen hervor, deren Aussehen demjenigen von Torula-Zellen gleicht. Nicht selten entstehen diese rundlichen Zellen auch seitlich an der Zelle (wie bei Dematium). Nur in sehr weiten Abständen gliedert sich dem Hauptstamm ein gleichgestalteter Seitenast an.

Sind warzige Erhebungen auf der Oberfläche vorhanden (s. oben), so bestehen diese fast ausschließlich aus rundlichen Zellen von der gewöhnlichen Größe.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Dritte Gruppe.

No. 12. Der sehr charakteristischen und üppigen Hautbildung auf Nährflüssigkeiten entspricht auch wieder eine sehr ausgesprochene Wachstumsform auf festen Nährböden in Form von Riesenkolonieen. Diese haben zwar eine gewisse Aehnlichkeit mit denjenigen von No. 15 und 16, unterscheiden sich jedoch durch eine öfter auf Würze- und Kartoffelwassergelatine zu beobachtende Entwickelungsform und ebenso durch eine rötliche Färbung, die allerdings nicht regelmäßig auftritt. Der allgemeine Wachstumscharakter ist auf allen geprüften Nährböden im Prinzip der gleiche, kommt jedoch wie auch bei einigen anderen Organismen in verschiedenen Abstufungen zum Ausdruck, da nicht alle Nährböden gleich günstig für die Ernährung sind. Auffällig schlecht, ja geradezu kümmerlich wuchsen die Riesenkolonieen auf der 10-proz. Kartoffelwassergelatine und zeigten dementsprechend hier die Riesenkolonieen am wenigsten die charakteristische Wachstumsform. Am üppigsten waren sie auf Rübenwassergelatine entfaltet. Die Wachstumsform hat durch die grobe Faltung, wie bei den Hautbildungen auf Nährflüssigkeiten, etwas sehr Charakteristisches, wenn auch nichts Spezifisches. Mehr oder minder variiert tritt sie auch auf den anderen Nährböden auf. Die groben Faltungen erstrecken sich über die ganze Oberfläche und sind mehr oder minder deutlich, insbesondere da, wo sie wie kreidig bestäubt aussehen, mit Zotten besetzt. Zentrale Partie wallartig ausgebildet und stark eingesenkt.

Farbe der Randpartie mattweiß, an den dichteren Stellen sowie in der zentralen Partie rötlich (vergl. Hautbildungen). Kolonieen auf der Unterseite nicht glatt, sondern höckerig, da sie, insbesondere unterhalb der zentralen Partie, sehr tief in die Gelatine hineingewachsen sind, ohne jedoch Anhänge zu bilden; lösen sich deshalb auch nicht glatt von der Unterlage ab.

Belag ziemlich fest, brüchig, läßt sich glatt durchschneiden und in kleinen Stückchen abheben.

Auf 10-proz. Würzegelatine kann neben der normalen Form nach zwei Richtungen hin eine Variation eintreten. Erstens sind die Faltungen der Oberfläche feiner und erstrecken sich nicht bis an den Rand der Kolonie, der noch eine radiale Streifung erkennen läßt, im übrigen aber auf der Oberfläche glatt ist. Außerdem ist die dicke zentrale Partie nicht eingesenkt. Zweitens kann nur die zentrale Partie grob gefaltet sein, während eine verhältnismäßig breite, flache Randpartie eine glatte, höchstens körnige, radial gestreifte Oberfläche aufweist. Zuweilen ist die glatte Randpartie auch stromähnlich ausgebildet. Es besteht also eine gewisse Aehnlichkeit mit den Riesenkolonieen von No. 10 auf Würzegelatine und auf Kartoffelwassergelatine.

Unter allen Umständen geht die Faltung, wenn sie auch lokalisiert ist, von der gesamten Oberfläche aus und nimmt nicht von isolierten „Kraterbildungen" wie bei No. 2 ihren Ursprung. Im übrigen verhält sich der Belag auch hinsichtlich der Behaarung wie auf Rübenwassergelatine, nur ist die glatte Randpartie zähe. Auf Kartoffelwassergelatine kann zwar die Wachstumsform, wenn auch die Faltungen feiner sind, sehr gut mit derjenigen auf Rübenwassergelatine übereinstimmen, häufiger scheinen jedoch Abweichungen nach der Richtung zu sein, daß einerseits selbst ältere Kolonieen höchstens auf der zentralen, höher erhobenen Partie Andeutungen von Faltungen zeigen, im übrigen aber völlig flach und glatt sind, andererseits Anklänge an die Wachstumsform auf Rübenwassergelatine und Würzegelatine, wie oben angegeben, aufweisen.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bemerkt sei nebenbei, daß die Riesenkolonieen auf Rübenwassergelatine einen feinen käsigen Geruch entwickeln.

Anatomie: In den Riesenkolonieen auf Rübenwassergelatine, welche jedenfalls die günstigsten Bedingen finden, ist der Belag aus sehr verschiedenen Zellformen zusammengesetzt; vorherrschend sind gestreckte Zellen, neben welchen aber kleine kugelförmige vorkommen. Am häufigsten ist die für den vorliegenden Organismus charakteristische Spindelform. Neben dieser kommen aber auch die verschiedenartigsten, insbesondere sehr lange, schlanke Zellen vor, die an der Randpartie in großer Zahl vorhanden sind. In den tieferen Schichten der zentralen Partie treten die gedrungeneren Zellen mehr und mehr zurück und sind Sproßverbände kräftiger langer und breiter Zellen in den untersten lockeren Partieen ausschließlich vorhanden. In den Vakuolen der langgestreckten Zellen regelmäßige Kristalloide, welche sehr häufig die Form eines dünnen Stäbchens zeigen; zuweilen sind auch Konglomerate von solchen vorhanden. Oelkörperchen.

In der flacheren Randpartie der auf Würzegelatine wachsenden Riesenkolonieen fehlen zwar langgestreckte Zellen nicht, jedoch treten sie gegenüber den vorherrschenden kürzeren, teilweise fast kugelförmigen Zellen zurück.

Die flach ausgebreiteten Riesenkolonieen auf Kartoffelwassergelatine können ebenfalls vorherrschend aus Sproßverbänden langgestreckter Zellen aufgebaut sein, und es erscheint um so auffälliger, daß die Riesenkolonieen keine ausgesprochene Wachstumsform besitzen. Es sei jedoch daran erinnert, daß auch die Hautinseln auf Flüssigkeiten, trotzdem sie die gleichen langgestreckten Zellen enthalten, sehr lange glatt bleiben. In anderen Fällen enthält die glatte Randpartie, abgesehen von einzelnen Nestern, die aus spindelförmigen, normal gestalteten Zellen bestehen, sehr kleine ellipsoidische, gestreckt-ellipsoidische und fast stäbchenförmige Zellen; dazwischen liegen dünne wurstförmige. Sehr häufig sind Riesenzellen. Jedenfalls rufen die Zellen nach ihrem ganzen Aussehen den Eindruck hervor, als ob sie sich nicht unter den günstigsten Bedingungen befänden.

Die Gelatineschichten unterhalb der Kolonie sind bis zu einer Tiefe von etwa 5 mm in der Regel von sehr langgestreckten schlanken Zellen reichlich durchsetzt. In Kartoffelwassergelatine bestehen die reich verzweigten Sproßverbände nicht selten ebenso wie in sehr alten Hautbildungen aus ungemein langen und sehr dünnen Zellen, welche kaum mehr entscheiden lassen, ob es sich um ein Sproßmycel oder um ein typisches Mycel handelt. Nach allen Beobachtungen scheint letzteres niemals bei dem vorliegenden Organismus vorzukommen.

## Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

Das diagnostisch wichtige Verhalten der vorliegenden Organismen gegenüber verschiedenen Zuckerarten wurde nach der von P. Lindner[1])

---

1) Wochenschrift für Brauerei Bd. XVII. 1900. p. 336.

Zur Methode selbst möchte ich bemerken, daß sie keine wesentlichen Schwierigkeiten bietet. In erster Linie ist das richtige Maß beim Auftragen des Vaselinöles zum Verschluß der Kultur durch das Deckglas einzuhalten. Bei einem Ueberschuß von Vaselinöl rutscht das Deckglas leicht und wird hierdurch die Grube des Objektträgers geöffnet. Bei einem Mangel an Vaselinöl tritt leicht Luft in die Grube ein; die eine Parallelkultur kann dann scheinbar Gärung zeigen, die andere nicht. In ersterem Falle läßt sich unter dem Mikroskop vielfach die Stelle des Lufteintrittes, an welcher sich viele kleine Luftbläschen befinden, nachweisen. Meist ist sie auch schon durch das Fehlen des Vaselinöles zwischen Deckglas und Objektträger oder wenigstens durch

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

angegebenen Kleingärmethode geprüft. Die Versuchsergebnisse können nur für diese und die übrigen eingehaltenen Bedingungen gelten. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der Verlauf der Gärung, insbesondere bei den weniger gärkräftigen Arten, ein anderer ist oder überhaupt noch Vergärung direkt festgestellt werden kann, wenn der Versuch in mit Watte verschlossenen Gefäßen in größerem Maßstab durchgeführt und die Beobachtung längere Zeit hindurch fortgesetzt wird. Die vorliegenden Organismen sind sehr luftliebend und befinden sich infolgedessen unter dem dicht schließenden Deckglas nicht unter den besten Vegetationsbedingungen. Gleichwohl habe ich mich entschlossen, die Methode, welche sich bei verschiedenen anderen Gelegenheiten erprobt hatte, vorläufig anzuwenden und behalte ich mir vor, den Versuch noch in anderer Weise durchzuführen, wobei zu berücksichtigen wäre, ob nicht solche Zuckerarten, welche nicht vergoren werden, gleichwohl von den Organismen verwertet werden.

Das Verhalten der Organismen in gehopfter Würze deutet darauf hin, daß nach langer Zeit eine, wenn auch nur geringe, Vergärung von gewissen Zuckerarten stattfindet.

Die Herstellung des zu prüfenden Aussaatmaterials geschah in folgender Weise. Die Organismen wurden nach der Angabe von Lindner in Strichkulturen auf schräg erstarrter, 10-proz. gehopfter Würzegelatine vermehrt. Nach den früher mitgeteilten Versuchen würde sich eine Hefezuckerwassergelatine besser zur Vermehrung geeignet haben. Da diese jedoch nicht so fest wie die Würzegelatine wird und hierdurch manche Unannehmlichkeit im Gefolge hat, wurde gehopfte Würzegelatine zur Vermehrung vorgezogen, um so mehr, da sich bei den gleichen Versuchen und auch sonst gehopfte Bierwürze noch als gute Nährflüssigkeit für die vorliegenden Organismen bewährt hatte. Die Aufzucht des Impfmaterials für die Gelatine erfolgte ebenfalls in gehopfter Bierwürze.

Da die Gelatine, wie die Erfahrung gezeigt hat, bei etwas höheren Temperaturen sehr leicht erweicht, bei einzelnen Arten, wie No. 10, sogar sehr rasch verflüssigt und damit der Zweck einer Massenentwickelung auf großer Oberfläche vereitelt wird, so wurden die Kulturen in einen

---

starkes Zurückweichen des Vaselinöles an einer oder mehreren Stellen gekennzeichnet. Der Vaselinölring um die Grube muß frei von Luftblasen sein.

Die Verwendung von Vaselinöl hat das Unangenehme im Gefolge, daß sich nach einiger Zeit der Objektträger mit einer feinen Oelschicht überzieht, wodurch er schmierig wird und bei der Kontrolle das Mikroskop der Beschmutzung aussetzt.

Die Kulturen müssen bedeckt werden, da der auffallende Staub an der Vaselinölschicht festhaftet und Störungen im Bilde hervorruft.

Der Flüssigkeitstropfen mit der Einsaat in der Grube des Objektträgers muß ebenfalls das richtige Maß halten. Ist er zu klein, dann bildet sich beim seitlichen Hereinschieben des Deckglases leicht eine Luftblase. Durch Nachfüllen mit der Pipette vor der völligen Bedeckung der Grube im Objektträger mittelst des Deckglases läßt sich dieser Uebelstand beseitigen. Etwas schwieriger ist es, die den einzelnen Organismen selbst anhaftende Luft zu entfernen, doch gelingt dies, wenn die Einsaat gut mit der Flüssigkeit vermischt wird.

Ein größerer Ueberschuß von Flüssigkeit in der Grube ist zu vermeiden. Die am Boden der Grube nach einigen Minuten Ruhe angesammelten Zellen werden bei einem Uebermaß von Flüssigkeit beim seitlichen Hineinschieben des Deckglases leicht wieder aufgerührt und kommen dann teilweise mit Flüssigkeit zwischen das Deckglas und den Objektträger zu liegen. Beim Verdunsten dieser Flüssigkeit oder bei Vergärung des Zuckers kann Luft eingezogen werden. Die Entfernung der überschüssigen Flüssigkeit mittelst sterilen Fließpapiers ist eine wenig angenehme Arbeit.

Die Zuckerlösung darf nicht zu konzentriert sein und muß dementsprechend auch die dem Flüssigkeitstropfen zuzusetzende Zuckermenge bemessen werden. Die Erfahrung lehrt bald das richtige Maß einhalten.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keller mit 13—14° C gebracht. Sie entwickelten sich hier sehr kräftig und in gewohnter Weise.

Gewisse Unregelmäßigkeiten, welche sich bei den ersten Versuchsreihen, insbesondere bei den weniger gärkräftigen Organismen ergaben, ließen den Schluß zu, daß das Alter des Einsaatmateriales nicht ohne Einfluß auf das Ergebnis sei. Es war in diesem Falle nicht ausgeschlossen, daß der Höhepunkt der Gärkraft erst nach einem bestimmten Alter erreicht wird, daß aber die Gärkraft älterer Zellen sehr bald wieder abnimmt. Aus diesem Grunde kamen in wiederholten Versuchsreihen als Einsaat Kulturen von verschiedenem Alter zur Verwendung und zwar entweder für jeden einzelnen Versuch eine entsprechend lange Zeit herangezüchtete, besondere Kultur, oder es wurden von der gleichen Kultur nach verschiedener Zeit an verschiedenen Stellen, die früher noch nicht berührt worden waren, dem Zellbelag Proben entnommen.

Eine unter allen Umständen wiederkehrende Unregelmäßigkeit war allerdings hierbei nicht zu erkennen, immerhin ließ sich beispielsweise für No. 9 zugleich im Zusammenhang mit den übrigen Versuchsreihen erkennen, daß 12—13 Tage alte Kulturen besser und mehr Zuckerarten vergoren als 7—9 Tage alte; bei No. 12 vergären 11—12 Tage alte Kulturen besser als 5-tägige, bei No. 15 10—13 Tage alte besser als 8 Tage alte.

Die Erfahrungen sprechen also entschieden dafür, daß bei der Prüfung von ähnlichen Organismen nach der Kleingärmethode Kulturen von verschiedenem Alter untersucht werden müssen.

Die Uebertragung der Organismen in die Nährlösung geschah in der Weise, daß zunächst mit der Platinöse der Oberflächenbelag so vorsichtig abgenommen wurde, daß eine Vermengung mit Würzegelatine nicht stattfinden konnte.

Da nach Lindners Vorschrift größere Mengen der zu prüfenden Organismen zum Gärversuch genommen werden sollen, so wurde in 5 ccm neutrales Hefewasser eine Menge von etwa halber Erbsengröße gebracht und durch Schütteln sowie Verreiben mit der Platinöse verteilt.

Einzelne Organismen, wie No. 1 und 2, verteilten sich zwar augenblicklich, ballten sich jedoch in der Ruhe sofort wieder grobflockig zusammen. Hierin liegt eine gewisse Schwierigkeit bei der Uebertragung der Mischung in die Grube des Objektträgers mittelst einer sterilen Pipette, doch ließ sich diese dadurch einigermaßen vermeiden, daß man kurz vor der Entnahme der Mischung nochmals kräftig durchschüttelte. Die Art No. 7 mit ihren verschleimten Zellhäuten verteilte sich nur schwer im Hefewasser.

Geprüft wurden folgende Zucker: Dextrose, Lävulose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Milchzucker.

Je eine Versuchsreihe wurde mit je zwei Parallelkulturen und den nötigen Kontrollproben mit Hefewasser ohne Zuckerzusatz durchgeführt.

Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen ist sowohl bei der Einsaat wie beim Abschluß des Versuches nötig; bei jener ist auch auf einen etwaigen Glykogengehalt Rücksicht zu nehmen, da dieser die Ursache von kleinen Gasblasen nach mehreren Tagen in dem Falle sein könnte, wo die Zellen unter den gegebenen Bedingungen den zugesetzten Zucker nicht zu vergären vermochten.

Beim Abschluß der Versuche ist durch die mikroskopische Untersuchung insbesondere auch die Reinheit der Kulturen festzustellen.

Die Zellen des Einsaatmaterials befanden sich in guter Verfassung.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Glykogenbildung ist bei den vorliegenden Organismen, wie systematische Versuche ergaben, welche in einem der nächsten Abschnitte mitgeteilt werden sollen, im allgemeinen eine geringe. Beim Einsaatmaterial fehlte Glykogen in den meisten Fällen überhaupt oder es trat höchstens eine sehr schwache Reaktion mit verdünnter Jodlösung ein. Die Glykogenmengen waren also in keinem Fall so groß, daß sie etwa bei der Selbstgärung der Zelle eine Vergärung des dem Hefewasser zugesetzten Zuckers vortäuschen konnten.

Bei Abschluß der Versuche befand sich meist noch ein größerer Teil der Zellen in gutem Zustande. Zuweilen war jedoch ihr Aussehen schlecht. In einzelnen Fällen fanden sich nur abgestorbene Zellen vor; damit erklärten sich auch teilweise die schon oben berührten Anomalien.

Eine Verunreinigung irgend welcher Art war niemals festzustellen.

Die Kulturen wurden im Thermostaten bei 25° C mehrere Tage gehalten und während eines längeren Zeitraumes (bis zu 4 Tagen) täglich und zwar auch unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung kontrolliert. Eine über 5 Tage hinausgehende Beobachtung war nicht notwendig.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der wiederholten Versuche zusammengestellt.

Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

| No. | Alter der Kulturen Tage | Dextrose | Lävulose | Galaktose | Saccharose | Maltose | Milchzucker | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Erste Gruppe | | | | Es bedeutet:<br>+ = Vergärung.<br>— = Keine Vergärung.<br>Der Exponent an dem Zeichen + bedeutet:<br>¹ = Starke Gärung. Nach 24 Stunden die ganze Vertiefung des hohlgeschliff. Objektträgers von einer Gasblase erfüllt.<br>² = Mäßige Gärung. Desgl. die Vertiefung des Objektträgers etwa nur zur Hälfte von ein. Gasblase erfüllt.<br>³ = Geringe Gärung. In der Flüssigkeit in der Vertiefung des Objektträgers nach 24 Std. sehr kleine Gasblasen.<br>⁴ = Sehr geringe Gärung. Nach längstens 4 Tagen Gasblasen in der Flüssigkeit. |
| 3 | 24—29 | $+^{3}$ | $+^{3}$ | $+^{3}$ | $+^{3}$ | — | — | |
| 4 | 25—30 | $+^{3}$ | $+^{3}$ | $+^{3}$ | $+^{3}$ | — | — | |
| 6 | 16—35 | — | — | — | — | — | — | |
| 17 | 5—14 | $+^{4}$ | $+^{3}$ | $+^{4}$ | $+^{4}$ | $+^{4}$ | — | |
| 11 | 9—13 | — | — | — | — | — | — | |
| 5 | 23—31 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{2}$ | $+^{1}$ | $+^{4}$ | — | |
| 7 | 18—36 | — | — | — | — | — | — | |
| 8 | 11—21 | — | — | — | — | — | — | |
| | | | | Zweite Gruppe | | | | |
| 1 | 9—13 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{2}$ | $+^{1}$ | — | — | |
| 9 | 7—13 | $+^{2}$ | $+^{1}$ | $+^{4}$ | $+^{1}$ | $+^{4}$ | — | |
| 10 | 9—12 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{3}$ | $+^{1}$ | — | — | |
| 2 | 10 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{2}$ | $+^{3}$ | $+^{2}$ | — | |
| | 28 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{2}$ | $+^{2}$ | $+^{3}$ | — | |
| 15 | 8—13 | $+^{4}$ | $+^{4}$ | — | — | — | — | |
| 16 | 7—14 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{3}$ | $+^{1}$ | $+^{2}$ | — | |
| | | | | Dritte Gruppe | | | | |
| 12 | 5—13 | $+^{1}$ | $+^{1}$ | $+^{3}$ | $+^{4}$ | $+^{4}$ | — | |

Jeder Organismus wurde mindestens zweimal geprüft. Bei den Arten mit geringem Gärvermögen und langsamem Verlauf der Gärung erfolgte eine Wiederholung noch öfter (bis zu 5mal). In letzterem Falle traten vielfach scheinbare Unregelmäßigkeiten auf, insofern, als nach 24 Stunden bei einzelnen Zuckerarten nicht immer schon Gasblasen sichtbar waren. Die Kulturen blieben dann zur weiteren Beobachtung mindestens 3 Tage bei 25° liegen. In den meisten Fällen waren dann Gasblasen von größerer oder geringerer Ausdehnung sichtbar. Bei der Nebeneinanderstellung der Ergebnisse zeigte sich dann, vorausgesetzt,

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

daß das Aussaatmaterial des betreffenden Organismus sich überhaupt zur Vergärung eignete (das richtige Alter besaß), eine Regelmäßigkeit insofern, als die gleichen Zuckerarten, wenn auch nach verschiedener Zeit, Gärungserscheinungen aufwiesen. In der Tabelle ist dies durch den Exponenten 4 neben dem +-Zeichen angedeutet.

Milchzucker vermochte also keiner der Organismen unter den gegebenen Verhältnissen zu vergären; von wenigen wird Maltose und nur langsam zerlegt. Am energischsten wird im allgemeinen Dextrose und Lävulose vergoren und zwar von den Organismen der zweiten und dritten Gruppe rascher als von denjenigen der ersten Gruppe. Von der Mehrzahl wird auch noch die Saccharose durchschnittlich rasch in Alhohol und Kohlensäure gespalten und zwar wieder von der zweiten Gruppe im allgemeinen rascher als von der ersten und dritten Gruppe; viel langsamer erfolgt die Zerlegung der Galaktose durch die gleichen Organismen. Nach ihrem Verhalten gegenüber den Zuckerarten steht die Art No. 5 den Organismen der zweiten Gruppe näher als denjenigen der ersten.

Das Gärvermögen der Torula-Formen im Sinne von Hansen ist ein sehr geringes. Von der Art No. 6 wurde überhaupt kein Zucker in Alkohol und Kohlensäure zerlegt, sie unterscheidet sich also sehr gut von den übrigen, ebenso No. 17 von No. 3 + 4, weil jene Art Maltose zu vergären vermag, diese aber nicht. Die gleiche Verschiedenheit in Beziehung auf Maltosevergärung findet sich auch bei den Organismen der zweiten Gruppe; auf der einen Seite steht No. 9, 2 und 16, auf der anderen No. 1, 10 und 15, welche die Maltose nicht mehr zu vergären vermögen. Der letztgenannten Art geht sogar das Vergärungsvermögen für Galaktose und Saccharose ab.

M. Hartmann[1]) hat bei seiner Torula colliculosa beobachtet, daß die Zellen der flachen Erhebungen der Oberfläche der Riesenkolonieen Maltose vergären, diejenigen der glatten Partieen jedoch nicht. Gelegentlich habe ich nun geprüft, ob sich etwa die Art No. 11, welche bei Verwendung von verhältnismäßig jungen Kulturen überhaupt keine der dargebotenen Zuckerarten zu vergären vermochte, ähnlich wie Torula colliculosa verhält und in den oberflächlichen Erhebungen gärkräftige Zellen erzeugt. Eine auf 10-proz. Kartoffelwassergelatine bei 20° C gewachsene Kolonie war oberflächlich von zahlreichen flachgedrückten oder rundlichen Höckern bedeckt, die aus größeren Zellen, darunter auch Riesenzellen, als sie die glatte, äußerste Randpartie aufwies, bestand. Es wurden nun in der gleichen Weise wie oben angegeben mittelst der Kleingärmethode Versuche derart angestellt, daß das Einsaatmaterial mit einer Lanzettnadel einerseits vorsichtig den Erhebungen, andererseits der glatten Randpartie entnommen wurde.

Geprüft wurden in je zwei Parallelkulturen Dextrose, Saccharose und Maltose. In keiner der Kulturen traten jedoch selbst bei längere Zeit hindurch fortgesetzten Beobachtung Gärungserscheinungen auf.

(Schluß folgt.)

1) Wochenschrift für Brauerei. Bd. XX. 1903. p. 113.

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

*Nachdruck verboten.*

# Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule Graz.
Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer.]

## II. Pseudomonas dermatogenes. III. Pseudomonas myxogenes. IV. Micrococcus dermatogenes.

Nebst einigen Bemerkungen über Pseudomonas aeruginosa und fluorescens.]

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**
Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Mit 1 Tafel und 3 Kurven.
(Schluß.)

### Wachstum auf anorganischer Nährlösung mit besonderen N- und C-Quellen.

Zu diesen Versuchen wurden dieselben Nährlösungen benutzt, die auf p. 457 (No. 14/16 d. Centralbl.) dieser Abhandlung angeführt sind. Auch bezüglich der Untersuchungstechnik sei auf das früher bereits Mitgeteilte verwiesen.

In Tabelle III sind die allgemeinen Wachstumserscheinungen bei der Zucht unseres Bakteriums in den genannten Nährsubstraten zusammengestellt. (Siehe Tabelle III p. 616.)

Aus No. I dieser Tabelle entnehmen wir, daß in der mineralischen Nährlösung mit einem Zusatz von 1 Proz. Asparagin Pseudomonas myxogenes gut zu gedeihen vermag. Wird zur eben genannten Nährlösung noch Dextrose als besondere Kohlenstoffquelle zugesetzt (No. II), so ist das Wachstum bedeutend verstärkt, ohne daß es zu Fluoreszenzerscheinungen kommt, die aber ein Zusatz von Ammoniak oder Lauge sofort hervorruft. Weniger günstig auf das Wachstum wirkt die Zugabe von Saccharose oder Laktose als C-Quelle bei Asparagin als N-Quelle (No. III und IV). Trotzdem tritt im letzteren Falle sehr schöne, gelbgrüne Fluoreszenz auf. Sowohl in der dextrosehaltigen als auch in den mit Laktose oder Saccharose angelegten Kulturen zeigt der entstehende Bodensatz eine schleimige Beschaffenheit, die ihm mangelt, sobald man nur in Asparaginlösungen unsere Bakterienart züchtet. Bedeutend geringer ist das Wachstum, wenn Pseudomonas myxogenes in der mineralischen Nährlösung unter Zusatz von Kaliumnitrat mit Dextrose, Saccharose oder Laktose kultiviert wird (No. V, VI und VII).

Das beste Wachstum weist in diesem Falle No. VI auf, wo neben Kaliumnitrat als Stickstoffquelle Saccharose als Kohlenstoffquelle geboten ist. Weniger gut ist es, wenn an deren Stelle Dextrose tritt, noch schlechter, wenn Laktose verwendet wird. Nitrit konnte in geringen Mengen in No. VI und No. VII nachgewiesen werden.

Noch bedeutend ungünstiger ist das Wachstum unserer Bakterienart bei der Darreichung von Chlorammonium als Stickstoffquelle in Verbindung mit den genannten Kohlenstoffquellen (No. VIII, IX und X). Auch hier begünstigt gerade der Saccharosezusatz etwas die Vermehrungsfähigkeit, während in der Dextrose führenden Nährlösung

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

| No. | M-Nähr-lösung ccm | Asparagin g | Kaliumnitrat g | Chlor-ammonium g | Dextrose g | Saccharose g | Laktose g | Reaktion | Wachstums-erscheinungen nach 48 Stunden bei 22° C | Wachstums-erscheinungen nach 8 Tagen bei 22° C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 100 | 1 | — | — | — | — | — | neutral | Allgemeine Trübung. Bodensatz, keine Kahmhaut, blaugrüne Fluoreszenz | Starke allgemeine Trübung, Bodensatz, gelbgrüne Fluoreszenz, starker Geruch nach Ammoniak |
| II | 100 | 1 | — | — | 1 | — | — | „ | Sehr gutes Wachstum, allgemeine Trübung, Bodensatz. Keine Kahmhaut, keine Fluoreszenz | Starke Trübung, schleimig. zäher Bodensatz, keine Kahmhaut, keine Fluoreszenz |
| III | 100 | 1 | — | — | — | 1 | — | „ | Etwas geringeres Wachstum als bei II, noch keine Fluoreszenz | Allgem. Trübung, weniger schleimiger Bodensatz, schöne gelbgrüne Fluoreszenz, viel Ammoniak |
| IV | 100 | 1 | — | — | — | — | 1 | „ | Wachstum fast wie bei II, noch keine Fluoreszenz | Allgem. Trübung, Bodensatz, keine Deckhaut, gelbgrüne Fluoreszenz. Sehr viel Ammoniak |
| V | 100 | — | 1 | — | 1 | — | — | „ | Geringes Wachstum, Spur Trübung, minimaler Bodensatz, keine Fluoreszenz | Schwache allgemeine Trübung, wenig Bodensatz. Keine Kahmhaut. Sehr geringe Fluoreszenz auf Zusatz von Alkali. Kein Nitrit |
| VI | 100 | — | 1 | — | — | 1 | — | „ | Etwas bess. Wachstum wie bei V, Trübung u. Bodensatz ohne Kahmhaut | Allgem. Trübung, Bodensatz. Keine Kahmhaut. Schwach blaugrüne Fluoreszenz. Geringe Nitritbildung |
| VII | 100 | — | 1 | — | — | — | 1 | „ | Sehr geringes Wachstum, Spur Trübung u. Bodensatz, keine Fluoreszenz | Sehr geringe allgemeine Trübung, wenig Bodensatz. Selbst auf Zusatz von Alkali keine Fluoreszenz. Sehr schwache Nitritbildung |
| VIII | 100 | — | — | 1 | 1 | — | — | „ | Schlechtes Wachstum, geringe Trübung und wenig Bodensatz, keine Fluoreszenz | Schwache allgemeine Trübung. Spur Bodensatz. Auch auf Zusatz von Alkali keine Fluoreszenz |
| IX | 100 | — | — | 1 | — | 1 | — | „ | Etswas besseres Wachstum wie bei VIII, Spur Bodensatz, keine Fluoreszenz | Schwache allgemeine Trübung, stärker als bei VIII. Spur Fluoreszenz auf Zusatz von Ammoniak |
| X | 100 | — | — | 1 | — | — | 1 | „ | Noch kein wahrnehmbares Wachstum | Eben wahrnehmbare Trübung u. Bodensatz. Keine Fluoreszenz |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur spärliches Wachstum zu verzeichnen ist und bei Laktosegehalt fast kein Wachstum auftritt.

Vergleichen wir diese Ergebnisse mit den auf Tabelle I zusammengestellten, so müssen wir gestehen, daß hier eine große Aehnlichkeit vorliegt. Wir finden bei beiden Bakterienarten fast analoge Verhältnisse bei der Zucht in anorganischer Nährlösung mit besonderen C- und N-Quellen, wenn wir von der Beschaffenheit des gebildeten Bodensatzes absehen.

Tabelle IV.

| No. | M-Nährlösung | Asparagin | Kaliumnitrat | Chlorammonium | Dextrose | Saccharose | Laktose | Nach 6-tägig. Wachstum bei 22 ° C restierende Menge von | | | Berechn. Mengen d. verbr. Kohlenhydrates | Nach 6-tägigem Wachstum bei 22 ° C gebildete Menge $^1/_{10}$ Normal | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | Dextrose | Saccharose | Laktose | | Säure | Alkali |
| | ccm | g | g | g | g | g | g | g | g | g | g | ccm | ccm |
| I | 100 | 1 | — | — | 1,106 | — | — | 0,406 | — | — | 0,700 | 6,60 | — |
| II | 100 | 1 | — | — | — | 0,999 | — | — | 0,932 | — | 0,067 | — | 8,72 |
| III | 100 | 1 | — | — | — | — | 1,051 | — | — | 0,872 | 0,179 | — | 14,52 |
| IV | 100 | — | 1 | — | 0,942 | — | — | 0,801 | — | — | 0,141 | 4,41 | — |
| V | 100 | — | 1 | — | — | 1,049 | — | — | 1,046 | — | 0,003 | 0 | 0 |
| VI | 100 | — | 1 | — | — | — | 1,051 | — | — | 1,039 | 0,012 | 0,69 | |
| VII | 100 | — | — | 1 | 0,820 | — | — | 0,755 | — | — | 0,065 | 4,90 | — |
| VIII | 100 | — | — | 1 | — | 0,998 | — | — | 0,994 | — | 0,004 | 0 | 0 |
| IX | 100 | — | — | 1 | — | — | 0,901 | | | 0,899 | 0,002 | 0 | 0 |
| X | 100 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 23,55 |

Tabelle IV gibt uns Aufschluß über die Menge der zugesetzten Kohlenstoffquelle und über die beim Wachstum gebildeten Mengen von Säure oder Alkali. Dient Asparagin als N-Quelle, so wird besonders Dextrose in bedeutender Menge aufgespalten (0,7 g), wobei ein Ueberschuß von freier Säure zurückbleibt (No. I), nachdem ein Teil derselben durch das gleichzeitig aus dem Asparagin stammende Ammoniak gebunden wurde. Schon bedeutend geringer ist der Verbrauch von Laktose in Verbindung mit Asparagin. Hier entsteht aber in der Kultur freies Alkali. Noch geringer ist die Abnahme von Saccharose, wobei ebenfalls nach 6-tägigem Wachstum freies Ammoniak in der Kultur nachweisbar ist (No. II).

Entsprechend dem viel geringeren Wachstum in mineralischen Nährlösungen mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle ist hier der Verbrauch an Kohlehydraten. Es wird wieder relativ am meisten Dextrose gespalten, dann aber sehr wenig Laktose und Spuren von Saccharose. Nur in No. IV und VI war freie Säure nachzuweisen, während No. V neutral blieb.

Bei der Darreichung von Chlorammonium als N-Quelle wird von den angegebenen Kohlehydraten noch weniger verbraucht (No. VII, VIII und IX), am meisten Dextrose unter Säuerung des Nährsubstrates, Spuren von Saccharose und Laktose ohne Aenderung der ursprünglichen neutralen Reaktion.

Vergleichen wir die Zahlen der Tabelle II und IV, so finden wir bei Asparagin als N-Quelle im Verbrauch von Saccharose und Laktose einen wesentlichen Unterschied. Während in diesen Nährlösungen Pseudomonas dermatogenes die Saccharose stärker aufspaltet als Laktose, findet bei Pseudomonas myxogenes gerade das Umgekehrte statt, indem die Laktose intensiver ver-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

braucht wird als Saccharose. Die übrigen Unterschiede brauchen wohl nicht besonders herausgegriffen zu werden.

### Wachstum in alkoholhaltiger Nährbouillon und in Bier.

Die zu den Versuchen verwendete neutrale Nährbouillon enthielt 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Proz. (Volum-)Aethylalkohol. Alle Proben wurden mit einer Oese einer Aufschwemmung junger Agarkultur in sterilem Wasser infiziert. Nach 6-tägigem Aufenthalt bei 22° C zeigte sich in den Probierröhrchen mit 1 bis inkl. 5 Proz. Alkoholgehalt eine Vermehrung der eingesäten Bakterien. In den Kulturen mit 1, 2, 3 und 4 Proz. Alkohol war das Wachstum fast ebenso gut wie in alkoholfreier Fleischbrühe. Es war allgemeine Trübung mit beträchtlichem Bodensatz festzustellen. In der Nährbouillon mit 5 Proz. Alkoholgehalt war nur eine schwache Trübung ohne Bodensatz wahrzunehmen. In der Bouillonkultur mit 6 Proz. Alkohol konnte erst nach einem 12-tägigen Aufenthalt bei 22° C eine eben wahrnehmbare Trübung konstatiert werden. Zur Vorsicht wurde noch eine Fleischbrühe mit 7 Proz. Alkoholgehalt hergestellt, in der aber eine Vermehrung der eingebrachten Zellen unserer Bakterienart nicht mehr beobachtet werden konnte.

Wird Pseudomonas myxogenes in pasteurisiertes Bier eingebracht, konnte nur eine geringe Vermehrung festgestellt werden, die aber keine Trübung des Kulturmaterials verursachte, sondern nur in der Bildung eines schwachen Bodensatzes zum Ausdruck kam, der beim Umschütteln das Bier allerdings trübte. Ueber die Lebensdauer unserer Bakterienart in Bier soll zusammenfassend mit den Ergebnissen von Untersuchungen an allen aus Bier isolierten Bakterienarten eingehend mitgeteilt werden.

## IV. Micrococcus dermatogenes.

Diese zu den Coccaceae gehörige Bakterienart wurde aus einem Flaschenbier durch den Agarplattenguß isoliert. Das Flaschenbier ist eine Originalfüllung einer hiesigen Brauerei, dessen Alkoholgehalt 4,03 Gewichtsprozente betrug. Die Flasche war mit einem sehr guten Kork verschlossen; das Bier zeigte keine Trübung. Da diese Kokkenart nicht in besonderen Wuchsverbänden, höchstens zu zweit vereint, wächst und unbeweglich ist, gehört sie zur Gattung „Micrococcus“ des Systems von Migula. Sie konnte nach den vorliegenden Beschreibungen mit keinen der bereits genauer untersuchten Kokken identifiziert werden und wurde wegen ihrer Eigenschaft, auf festen Nährböden sehr zähe und kaum verreibliche, ganz abhebbare, derbe Auflagerungen von dunkelchromgelber Farbe zu bilden, „Micrococcus dermatogenes“ genannt. Sie neigt übrigens dazu, ohne bisher erkennbare Ursachen unter anscheinend gleichen Züchtungsbedingungen sehr verschieden stark ihren Farbstoff zu bilden, dessen eigentliche Farbe erst vollends sichtbar wird, wenn man die ganze Auflagerung abzieht und in Wasser suspendiert oder auf einer Milchglasplatte ausbreitet, worüber im Abschnitt „Agarkultur“ noch Genaueres mitgeteilt wird.

### Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Auf der neutralen Nährgelatineplatte bildet Micrococcus dermatogenes in den ersten 48 Stunden bei Zimmertemperatur sehr kleine, unregelmäßige, lichtgraugelbe Auflagerungen, wenn man bei

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

offener Blende beobachtet. Die Kolonieen sind scharf begrenzt und ihre Kontur unregelmäßig gebuchtet und gezähnt. Die ganze Auflagerung ist mäßig dick und von einer breiten und flachen Verflüssigungszone umgeben, die gegen die feste Gelatine scharf abgesetzt erscheint. Die Kolonieen messen im Mittel 0,16 mm im Durchmesser. Nach 4 tägigem Wachstum erreichen sie eine Größe von 0,5 mm und liegen am Grunde der Verflüssigungsmulde. Im auffallenden Licht sind sie orangegelb gefärbt. Sowohl die jungen als auch die älteren Kolonieen besitzen ein kristallinisches Gefüge. Sie sind aus größeren und kleineren Plättchen und Schüppchen zusammengesetzt und ihre Oberfläche erscheint wie von Glassplittern besät. Die älteren Kolonieen sind sehr unregelmäßig gestaltet, aber immer scharf begrenzt. Selbst nach wochenlangem Wachstum findet keine Auflösung oder Zerteilung in eine breiige Masse in den verflüssigten Gelatinemassen statt. Impft man von der Gelatineplatte ab, so geht bei der Berührung einer Kolonie mit der Nadel die ganze Auflagerung mit. Sie kann nur schwer in Wasser verteilt und verrieben werden.

Untersucht man im hängenden Tropfen, so gewahrt man kleine, zu unregelmäßigen Häufchen oder Tetraden verbundene Kugelbakterien, die nur die Brownsche Molekularbewegung aufweisen.

Nach der Gramschen Methode behandelt, behalten sie sehr stark den Farbstoff. Die mit $^1/_8$ Karbolsäurefuchsin gefärbten Zellen besitzen einen Durchmesser von ungefähr 0,6 $\mu$. Fig. 12 der Tafel zeigt uns das Photogramm eines mit $^1/_8$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstriches von einer 48-stündigen Gelatineplattenkolonie.

Die in der Tiefe der Gelatine wachsenden Kolonieen sind fast ebenso groß als die oberflächlichen und besitzen den gleichen Aufbau, nur nähert sich ihre Gestalt mehr der Kugelform und ihre Färbung ist lichter.

Die mit dem Micrococcus dermatogenes angelegte Gelatinestichkultur zeigt Wachstum längs des ganzen Impfstiches. An der Oberfläche bildet sich um diesen eine kaum wahrnehmbare Auflagerung nach den ersten 24 Stunden. Es setzt dann schon die Verflüssigung ein und der sehr schmale und hohe Trichter reicht ungefähr 2 cm in die Gelatine hinein. Die verflüssigte Gelatine ist durch grobe Krümeln allgemein getrübt. Nach 4-tägigem Wachstum hat sich die Verflüssigung weit ausgebreitet, ohne in die Tiefe vorzudringen. Der nun oben sehr weite und unten konisch verjüngte Verflüssigungstrichter enthält einen grauweißen, trüben und flockigen Inhalt. Am Grunde sammelt sich ein ebensolcher Bodensatz an. Nach längerer Zeit bildet sich ein mehr chamoixfarbiges Deckhäutchen von beträchtlicher Dicke aus, das beim Umschütteln in größeren Fetzen zerfällt und zu Boden sinkt.

Auf die schief erstarrte Nähragarfläche überimpft, bildet unser Bakterium nach 24 Stunden bei Brüttemperatur (35° C) einen dünnen, feuchtglänzenden, schmutzig-gelben und scharf begrenzten Belag längs des Impfstiches. Die Auflagerung kann in Fetzen zusammenhängend abgezogen werden und zeigt dann eine prachtvolle chromgelbe Farbe. Später verdickt sich die Auflagerung ganz beträchtlich, ohne eine besondere Oberflächenstruktur aufzuweisen. Dabei wird ein intensiv leuchtend chromgelber Farbstoff gebildet. Dieser Farbstoff ist weder in Wasser, noch in Alkohol, Chloroform, Aether etc. löslich, sondern kann aus der Auflagerung durch konzentrierte Chlorwasserstoffsäure gewonnen werden. Die Lösung besitzt eine hellgelbe Farbe und ist nur kurze

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit beständig. Schon nach einigen Stunden ist die Farblösung verblaßt. Durch Kalilauge findet eine Zerstörung des Farbstoffes bei der Lösung statt. Salpetersäure entfärbt den Belag innerhalb weniger Minuten. Schwefelsäure zersetzt den Farbstoff unter Rotbraunfärbung. Wir haben also hier einen ganz anderen Farbstoff vor uns, als Schneider für Micrococcus aureus (Rosenberg) Migula beschreibt. In seinem Verhalten gegen Lösungsmittel nähert er sich dem von Claessen und Schneider untersuchten blauen Farbstoff des Bacterium indigonaceum Claessen, der auch nur durch Salzsäure gelöst werden konnte und sehr unbeständig war. Die beste Farbstoffproduktion und das beste Wachstum überhaupt ist bei Brüttemperatur zu konstatieren. Bei Zimmertemperatur ist das Wachstum bedeutend verzögert und erst sehr spät wird der chromgelbe Farbstoff gebildet. Bezüglich des Auftretens von zähen und sehr zusammenhaltenden Auflagerungen sei noch erwähnt, daß für deren Zustandekommen der Wassergehalt des Agars von großer Bedeutung ist. Nimmt man an Stelle des Nähragars mit 2 Proz. Agargehalt solches von nur 1,5 Proz., so ist die Auflagerung schmierig und zerreiblich und läßt sich nicht mehr in Fetzen abheben.

Die Agarstichkultur von Micrococcus dermatogenes läßt Wachstum längs des ganzen Impfstiches erkennen. An der Oberfläche bildet sich der chromgelbe Belag, während im Impfstich sehr gutes, aber farbloses Wachstum herrscht.

Auch die in der Buchnerschen Röhre anaërob gezüchteten Agarstrichkulturen zeigen bei Brüttemperatur üppiges, aber farbloses Wachstum.

Micrococcus dermatogenes ist demnach ein fakultativer Anaërobiont.

Auf der sterilen Kartoffelscheibe entsteht längs des Impfstriches bei Brüttemperatur nach 48 Stunden ein mattglänzender, hellgelber Belag, der scharf begrenzt und mäßig dick ist. Es bildet sich auch hier eine schwer abhebbare, zusammenhängende Haut. In der Folge verdickt sich die Auflagerung und nimmt entsprechend der Abnahme des Wassergehaltes durch Verdunstung eine dunklere Farbe an.

### Wachstum auf flüssigen Nährsubstraten.

In neutraler Nährbouillon ist bei 37° C nach 24 Stunden eine mäßige Trübung der Flüssigkeit und ein krümeliger, weißlicher Bodensatz zu beobachten. Auch die Ränder des Kulturglases sind von feinen und gröberen Flocken und Bröckelchen bedeckt, die darauf sehr fest haften. Kahmhautbildungen fehlen vollständig, ebenso mangelt jede Farbstoffbildung. Beim Umschütteln tritt keine Schaumbildung in der Flüssigkeit auf und der Bodensatz kann nur sehr schwierig verteilt werden. Bei der Zucht von Micrococcus dermatogenes in Nährbouillon bei 22° C ist das Wachstum viel geringer und die genannten Erscheinungen treten viel später auf.

Wird unsere Bakterienart in Traubenzuckerbouillon im Gärungskölbchen kultiviert, findet gutes Wachstum in beiden Schenkeln statt, ohne daß es zur Gasbildung kommt.

Verimpfen wir Micrococcus dermatogenes in Peptonwasser, bemerken wir nach 24-stündigem Aufenthalte im Brütschranke fast noch kein Wachstum. Erst nach 72 Stunden gewahrt man eine geringe Trübung und einen mäßigen Bodensatz. Indol konnte niemals nachgewiesen werden.

In der sterilisierten Milch gedeiht unsere Bakterienart bei

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

35° C sehr gut. Schon nach 24 Stunden ist das Kasein in Form eines feinflockigen Niederschlages ausgefällt. Erst sehr spät ist eine Lösung der Fällung in nennenswerter Menge festzustellen. Eine Farbstoffbildung ist hier nicht zu beobachten. Auch werden keine Riechstoffe gebildet.

Auch in Petruschkys Lackmusmolke findet bei Brüttemperatur eine starke Vermehrung unseres Bakteriums statt. Nach 24 Stunden findet ein Umschlag des neutralen Violett in Blau statt. Vom 3. Tage des Wachstums ab macht sich eine saure Reaktion bemerkbar, die dann bleibt. Die mit Zehntelnormallösungen nach 6-tägigem Wachstum ausgeführten Titrationen ergaben eine Menge von 10 Proz. $^1/_{10}$-Normalsäure.

Es wurden noch eine Reihe von Versuchen der Zucht unseres Bakteriums auf anorganischer Nährlösung unter Darreichung besonderer Kohlenstoff- und Stickstoffquellen gemacht, die wegen ihres negativen Ergebnisses gleich hier angegeben werden sollen. Als N-Quelle diente wieder Asparagin, Kaliumnitrat und Chlorammonium, als C-Quelle Dextrose, Saccharose, Laktose und Glycerin. Auf keiner der genannten Nährlösungen fand auch nur spurweises Wachstum selbst nach Wochen statt. Es konnte nicht die geringste Vermehrung der eingesäten Zellen beobachtet werden.

Micrococcus dermatogenes gehört, entsprechend seinen Ansprüchen an die Stickstoffquelle, zu den Peptonbakterien im Sinne Fischers, nachdem ihm selbst Amidokörper, wie Asparagin, trotz besonderer C-Quelle nicht mehr als N-Quellen dienen können.

### Wachstum auf verschieden saurer und alkalischer Nährgelatine und Bouillon.

Auch diese Versuche wurden nach den auf p. 455 (No. 14/16 d. Centralbl.) dargestellten Methoden vorgenommen. Das beste Wachstum nach 48 Stunden wies die Gelatinestichkultur mit neutralem Inhalt auf. Noch gut war dasselbe bei 1 und 2 Proz. Normallaugengehalt zu bezeichnen, obwohl der in der angegebenen Zeit entstandene Verflüssigungstrichter nur etwa den 5. resp. den 8. Teil von der Größe des im neutralen Röhrchen entstandenen ausmachte. Bei einem Gehalt von 3 Proz. Normalnatronlauge war noch kein Wachstum zu bemerken. Nur sehr gering war es nach 48 Stunden bei einem Gehalt der Gelatine von 1 Proz. Normalessigsäure. Nach 10-tägigem Aufenthalte der Kulturen bei 22° C war in den relativen Wachstumsverhältnissen keine Aenderung zu verzeichnen, nur in dem Röhrchen mit 3 Proz. Normalnatronlauge war eine geringe Verflüssigung mit einer Luftblase im oberen Teile des Trichters zu bemerken.

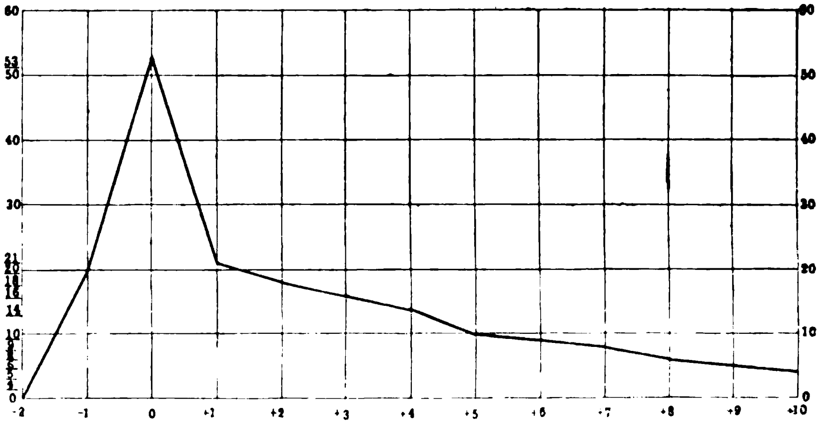
Bessere Einblicke in die Wachstumsverhältnisse bei verschiedenem Alkali- und Säuregehalte gestattet die Zucht von Micrococcus dermatogenes in verschieden alkalischer, neutraler und verschieden saurer Nährbouillon und Bestimmung der Wachstumsintensität durch Zählung der vermehrten Zellen nach den auf p. 456 (No. 14/16 d. Centralbl.) angeführten Untersuchungsmethoden. Konstruiert man sich damit nach den auf p. 456 und 457 (No. 14/16 d. Centralbl.) besprochenen Gesichtspunkten eine Kurve, so erhält man einen genauen Einblick in die Wachstumsverhältnisse unter den soeben angeführten Bedingungen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kurve III zeigt uns, daß in neutraler Nährbouillon das beste Wachstum stattfindet. Bei einem Gehalt von 1 Proz. Normalessigsäure (— 1) und 1 Proz. Normalnatronlauge (+ 1) ist dasselbe annähernd gleich, jedenfalls aber bedeutend geringer als in neutraler Bouillon. Bei höherem Alkaligehalt ist das Wachstum bedeutend verzögert und nimmt mit zunehmender Alkalimenge langsam ab, erreicht aber selbst bei einem Gehalt von 10 Proz. Normalalkali (+ 10) noch nicht 0. Bei einer Menge von 2 Proz. Normalessigsäure ist jede Vermehrung unterdrückt und kein Wachstum wahrzunehmen.




Kurve III.

### Wachstum in alkoholhaltiger Nährbouillon und in Bier.

Ebenso wie gegen Alkali ist unsere Bakterienart gegen Alkohol sehr tolerant. Sie vermehrt sich noch ganz gut in neutraler Bouillon mit einem Alkoholgehalt von 6 Volumproz. Bei 7 Proz. Alkoholgehalt ist das Wachstum schon sehr verringert und hört bei 8 Proz. vollends auf.

In pasteurisiertem Bier findet nur eine geringe Vermehrung des Micrococcus dermatogenes statt, indem ein spärlicher weißer Bodensatz entsteht, der beim Umschütteln die Flüssigkeit schwach trübt. Ueber die Lebensdauer unserer Bakterienart in Bier soll später im Zusammenhang mit anderen Bakterien mitgeteilt werden.

## Zusammenfassung.

### Pseudomonas dermatogenes.

Die Oberflächenkolonieen auf Nährgelatine sind scharf begrenzt und haben einen vielfach gebuchteten Umriß. Sie bestehen aus kleinen Plättchen und Schüppchen, die mit ihren Ecken vorspringen. Die Gelatine wird peptonisiert. Der zweite Kolonietypus zeichnet sich durch eine feinkörnige Struktur aus.

Die tiefliegenden Kolonieen sind kugelig ohne Ausläufer in die umliegende Gelatine.

Die auf Gelatine gezüchteten Stäbchen sind bipolar, die auf Agar gewachsenen homogen gefärbt.

Im hängenden Tropfen untersucht, erweist sich Pseudomonas dermatogenes lebhaft beweglich.

Auf schief erstarrtem Agar entsteht längs des Impfstriches

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine besonders in der Mitte verdickte Auflagerung von hellgelber Farbe, während der Nährboden zu fluoreszieren beginnt.

Das Temperaturoptimum liegt um 22° C. Bei 35° C findet keine Vermehrung mehr statt. Es entstehen dann etwas vergrößerte Formen.

Das nach der vereinfachten Zettnowschen Geißelfärbungsmethode hergestellte Geißelpräparat zeigt an den Stäbchen ein polares Büschel von 3—5 feinen Geißelfäden.

Nach Gram behandelt, wird unsere Bakterienart entfärbt.

In der Agarstichkultur findet längs des ganzen Impfstiches Wachstum statt.

Pseudomonas dermatogenes ist ein fakultativer Anaërobiont. Bei anaërober Zucht kommt die Farbstoffbildung nicht zum Ausdruck.

Auf das Weiße der Scheibe von gekochtem Hühnerei übertragen, bildet unsere Bakterienart einen chamoixgefärbten Belag, während das Weiße leicht gelbgrün gefärbt erscheint und später aufgehellt wird.

Auf sterilisierte Kartoffelscheiben überimpft, erzeugt Pseudomonas dermatogenes einen chamoixgefärbten, dicken Belag, der später perlmutterartig glänzt.

Eine Sporenbildung konnte bei der Zucht auf den gebräuchlichen Nährböden nicht beobachtet werden.

In Nährbouillon gedeiht unsere Bakterienart unter allgemeiner Trübung und Bildung eines Bodensatzes und einer Kahmhaut sehr gut.

Pseudomonas dermatogenes fällt, in sterilisierte Milch verimpft, das Kasein nach 48 Stunden; später erfolgt eine langsame Lösung desselben. Das Milchserum fluoresziert dann. Alte Milchkulturen riechen nach faulenden Knochen.

In Petruschkys Lackmusmolke wurden innerhalb von 5 Tagen 4,5 Proz. $^{1}/_{10}$ Normalalkali gebildet.

In Peptonwasser bemerkt man verhältnismäßig geringes Wachstum unter Bildung einer zarten Kahmhaut und eines geringen Bodensatzes.

Indol wird nur spurweise gebildet.

Das Alkaleszenzoptimum in Gelatine und Bouillon ist für unsere Bakterienart ein Gehalt von 1 Proz. Normalnatronlauge.

Pseudomonas dermatogenes wächst noch in mineralischen Nährlösungen bei Darreichung von Chlorammonium als N-Quelle, wenn Dextrose, Saccharose oder Laktose als besondere C-Quelle beigegeben wird.

Dient Asparagin als N-Quelle, findet bei Dextrose als C-Quelle das beste Wachstum statt; wird aber an Stelle von Asparagin Kaliumnitrat oder Chlorammonium verwendet, erzeugt zugesetzte Saccharose optimales Wachstum.

Von den der mineralischen Nährlösung zugesetzten Zuckerarten wird beim Wachstum relativ am meisten Dextrose von unserer Bakterienart aufgespalten. Dabei entstehen bedeutende Säuremengen. Diese fehlen, wenn in Verbindung mit Asparagin Saccharose oder Laktose als C-Quellen geboten werden. Wird Asparagin durch Chlorammonium oder Kaliumnitrat ersetzt, findet immer Säurebildung statt, sofern Dextrose, Laktose oder Saccharose nennenswert angegriffen werden.

Pseudomonas dermatogenes vermehrt sich noch in

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nährbouillon mit einem Gehalt von 5 Volumproz. Aethylalkohol.

In pasteurisiertem Bier ist das Wachstum bei Zimmertemperatur minimal.

### Pseudomonas myxogenes.

Auch diese Bakterienart bildet auf der neutralen Nährgelatine zwei Kolonieformen, eine von flächenhafter Beschaffenheit und fein geäderter Oberfläche und eine dickere, graubraun gefärbte und vollständig kreisrunde.

Die tiefliegenden Kolonieen sind kugelig, ohne Ausläufer.

Unsere Bakterienart peptonisiert die Gelatine.

Pseudomonas myxogenes ist sehr gut eigenbeweglich.

Das gefärbte Ausstrichpräparat zeigt homogen gefärbte, an den Enden leicht abgerundete Stäbchen von 1—5 $\mu$ Länge und 0,5 $\mu$ Breite.

Im Geißelpräparate erkennt man an einem Zellpole ein Büschel von 5—7 feinen, stark wellig gebogenen Geißelfäden.

Nach Gram behandelt, wird unsere Bakterienart entfärbt.

Die Agarstrichkultur unserer Bakterienart enthält einen sehr feuchten, schleimigen, dicken Belag von zitronengelber Farbe, der sich beim Abimpfen als zähschleimig und mäßig fadenziehend erweist.

Die Agarstichkultur von Pseudomonas myxogenes läßt spärliches Wachstum im Impfstich erkennen.

Nach 24—48 Stunden beginnen Agarkulturen gelbgrün zu fluoreszieren.

Pseudomonas myxogenes ist ein fakultativer Anaërobiont.

Das Temperaturoptimum liegt um 22° C. Bei 35° C findet nur eine äußerst spärliche Vermehrung unter Fadenbildung statt.

Setzt man den Kulturrasen junger Agarkulturen, auf frischen Agar überimpft, einer Temperatur von 35° C aus, entstehen lange Fadengebilde, die sich unter schlangenartigen Windungen im hängenden Tropfen fortschieben.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe entsteht beim Temperaturoptimum ein schmutzig-gelber, scharf begrenzter Belag. Nach 6-tägigem Wachstum gewahrt man hier wenig verlängerte Stäbchen.

Eine Sporenbildung konnte bei dieser Bakterienart bisher nicht beobachtet werden.

Auf der gekochten Hühnereischeibe wächst unsere Bakterienart mit einer schmutzig-gelben Auflagerung unter Erweichung und teilweiser Verflüssigung des Weißen.

In Traubenzuckerbouillon findet ohne Gasbildung gutes Wachstum unter allgemeiner Trübung und Bildung eines Bodensatzes statt. Eine Kahmhaut fehlt stets. Beim Aufschütteln erweist sich der Bodensatz als zähe, schleimige Masse, die sich in der Flüssigkeit schwer verteilen läßt. Fluoreszenzerscheinungen treten erst auf Zusatz von Ammoniak oder Lauge auf.

Auch in Peptonwasser ist das Wachstum unserer Bakterienart gut, doch erweist sich der Bodensatz als nicht schleimig. Eine Kahmhaut fehlt auch hier.

Indol konnte nach 6-tägigem Wachstum in bedeutender Menge nachgewiesen werden.

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

In sterilisierter Milch verursacht unsere Bakterienart nach 48 Stunden eine feinflockige Kaseinfällung, die nur sehr langsam teilweise gelöst wird.

In Petruschkys Lackmusmolke sind nach 5-tägigem Wachstum 4,7 Proz. $^1/_{10}$-Normalalkali nachzuweisen.

Das Alkaleszenzoptimum in Nährbouillon entspricht einem Gehalt von 1 Proz. Normalnatronlauge.

Pseudomonas myxogenes vermehrt sich auf mineralischen Nährlösungen kei einem Zusatz von Asparagin, Kaliumnitrat oder Chlorammonium als N-Quellen und Dextrose, Saccharose oder Laktose als C-Quellen. Sobald nennenswerte Zuckermengen gespalten werden, wird ein schleimiger Bodensatz gebildet.

Dextrose wird relativ am meisten unter Säureproduktion gespalten. Sowohl bei Asparagin als auch bei Kaliumnitrat als N-Quelle wird bedeutend mehr Laktose aufgespalten als Saccharose, wobei in der asparaginhaltigen Nährlösung Alkali, in der $KNO_3$-haltigen dagegen Säure gebildet wird. Dient Chlorammonium als N-Quelle, wird sehr wenig Laktose und Saccharose verbraucht. Ueberhaupt ist das Wachstum hier minimal.

Pseudomonas myxogenes vermag sich in Nährbouillon noch bei einem Gehalt von 6 Volumproz. Aethylalkohol bei Zimmertemperatur zu vermehren.

In pasteurisiertem Bier findet nur geringes Wachstum statt.

## Micrococcus dermatogenes.

Auf neutraler Nährgelatine bildet dieser Coccus sehr kleine, gelbe, zusammenhängende Kolonieen, die in einer weiten Verflüssigungsmulde liegen. Bei stärkerer Vergrößerung ist ihre Form unregelmäßig, die Kontur gebuchtet und die Oberfläche wie mit Glasscherben bestreut. Die Kolonieen heben sich ganz ab und sind nur schwer aufzuschwemmen. Die tiefliegenden Kolonieen bieten nichts Charakteristisches.

Die Gelatine wird energisch peptonisiert.

Die einzelnen Kokken sind nicht beweglich. Sie liegen, im hängenden Tropfen untersucht, in kleinen Häufchen vereint.

Nach Gram sind sie sehr gut färbbar.

Die Zellen von Micrococcus dermatogenes messen im Durchmesser 0,6 $\mu$.

Die Agarstrichkultur zeigt nach 24-stündigem Wachstum bei Brüttemperatur einen dünnen, schmutzig-gelben Rasen, der später eine hellchromgelbe Farbe annimmt und sich nur iu größeren Fetzen abheben läßt.

Der gebildete Farbstoff löst sich nur in Chlorwasserstoffsäure mit gelber Farbe. Diese verblaßt schon nach einigen Stunden.

In der Agarstichkultur gewahrt man im ganzen Impfstich gutes Wachstum.

Micrococcus dermatogenes ist ein fakultativ anaërob wachsendes Bakterium.

Anaërob gezüchtet, bildet unsere Bakterienart keinen Farbstoff.

Das Temperaturoptimum liegt um 35° C.

Auf der Kartoffel entsteht bei Brüttemperatur ein mattgelber, scharf begrenzter Belag von mäßiger Dicke.

In Nährbouillon bei 35° C gewahrt man einen starken Bodensatz und einen bröckeligen Belag an den Wänden des Kulturglases.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine Kahmhaut wird nicht gebildet. Ebenso mangelt jede Farbstoffbildung.

In Traubenzuckerbouillon wird kein Gas produziert.

In Peptonwasser ist das Wachstum nur sehr spärlich.

Indolbildung fehlt stets.

Bei Brüttemperatur koaguliert Micrococcus dermatogenes sterilisierte Milch innerhalb von 24 Stunden.

In Petruschkys Lackmusmolke bildet unsere Bakterienart innerhalb von 5 Tagen 10 Proz. $^1/_{10}$-Normalsäure.

In mineralischen Nährlösungen mit Asparagin, Kaliumnitrat oder Chlorammonium als Stickstoffquelle und Dextrose, Saccharose oder Laktose als Kohlenstoffquelle vermehrt sich Micrococcus dermatogenes überhaupt nicht.

Weder ein geringer Säuregrad noch eine größere Alkalimenge in Gelatine oder Nährbouillon verbessert das Wachstum. Dieses ist bei neutraler Reaktion des Nährbodens optimal.

In alkoholhaltiger Nährbouillon wird das Wachstum unserer Bakterienart erst durch eine Menge von 8 Proz. Aethylalkohol unterdrückt.

In pasteurisiertem Bier findet keine nennenswerte Vermehrung von Micrococcus dermatogenes statt.

### Tafelerklärung.

Fig. 1. Oberflächenkolonie auf neutraler Nährgelatine nach 4-tägigem Wachstum bei 22° von Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig. Vergr. 20fach.

Fig. 2. Oberflächliche Kolonie auf neutraler Nährgelatine nach 4-tägigem Wachstum bei Zimmertemperatur von Pseudomonas fluorescens (Flügge) Mig. Vergr. 20fach.

Fig. 3. Oberflächenkolonie von Pseudomonas dermatogenes nach 72-stündigem Wachstum bei 22° C auf neutraler Nährgelatine. Vergr. 40fach.

Fig. 4. Oberflächliche Kolonie von Pseudomonas myxogenes auf neutraler Nährgelatine nach 3-tägigem Wachstum bei 22° C. Rechts im Bilde sieht man die flächenhafte, zarte und fast durchsichtige Auflagerung, die in ihrem Aussehen an die Kolonieen von Bacterium coli erinnert. Links im Bilde gewahrt man die bedeutend kleinere, dickere und dunkel gefärbte Auflagerung, die den zweiten Kolonietypus vorstellt. Hier erscheint die Verflüssigungszone als hellerer Streifen rings um die Kolonie. Vergr. 25fach.

Fig. 5 zeigt uns beide oberflächlichen Kolonieformen von Pseudomonas dermatogenes nach 72-stündiger Kultivierung bei 22° C auf der neutralen Gelatineplatte. Neben der aus einzelnen Schüppchen und Plättchen zusammengesetzten Kolonie, deren Kontur zahlreiche feine Kerben aufweist, liegt eine glattrandige, fast undurchsichtige und nur gekörnte Auflagerung, die den zweiten Kolonietypus unseres Bakteriums repräsentiert. Vergr. 40fach.

Fig. 6 gibt das Photogramm eines mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparates wieder, das von Pseudomonas dermatogenes nach 4-tägigem Wachstum auf Gelatine bei Zimmertemperatur hergestellt wurde. Es fallen besonders die polare Färbung und die hellen farblosen Lücken im Innern der an den Enden abgerundeten Stäbchen auf. Vergr. 1000fach.

Fig. 7. Photogramm eines mit $^1/_3$ Ziehlscher Lösung gefärbten Ausstriches von Pseudomonas dermatogenes nach 24-stündigem Wachstum auf Agar bei 22° C. Die an den Polen leicht abgerundeten Bakterien weisen eine homogene Tinktion auf. Vergr. 1000fach.

Fig. 8. Lichtbild eines nach der vereinfachten Zettnowschen Methode hergestellten Geißelpräparates von Pseudomonas dermatogenes. Das Präparat wurde von einer 24-stündigen, bei 18° C gewachsenen Agarkultur angefertigt. Vergr. 1000fach.

Fig. 9. Entspricht dem Photogramm eines mit $^1/_3$ Karbolfuchsin tingierten Ausstrichpräparates von Pseudomonas myxogenes, die auf neutralem Nähragar durch 24 Stunden bei 22° C gezüchtet wurde. Die an den Enden abgerundeten, kleinen Stäbchen liegen mit ihrer Längsseite aneinander und bilden so kleine Gruppen. Die Bakterien erscheinen vollständig homogen gefärbt. Vergr. 1000fach.

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Fig. 10 stellt das Lichtbild eines Ausstriches einer Kultur von Pseudomonas myxogenes dar, die durch 24 Stunden einer Temperatur von 35° C ausgesetzt war. Es wurde der Kulturrasen einer 24-stündigen Agarkultur auf eine frische Agarfläche übertragen und dann der erhöhten Temperatur durch 24 Stunden überlassen. Der davon hergestellte Ausstrich wurde mit Loefflerschem Methylenblau gefärbt. Wir sehen ausschließlich lange, schlanke, gleichmäßig dicke Fäden, an denen eine Gliederung kaum mehr zu beobachten ist. Vergr. 1000fach.

Fig. 11. Photogramm des Geißelpräparates von Pseudomonas myxogenes, hergestellt von einer sehr jungen, bei Zimmertemperatur gehaltenen Agarkultur nach der vereinfachten Zettnowschen Geißelfärbungsmethode. Vergr. 1000fach.

Fig. 12. Photogramm eines Ausstriches von einer 48-stündigen Gelatineplatten-Oberflächenkolonie von Micrococcus dermatogenes, gefärbt mit $^1/_5$ Karbolfuchsin. Vergr. 1000fach.

*Nachdruck verboten.*

# Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft,

## nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich (Vorstand: Prof. Dr. R. Burri).]

Von **Leo Müller.**

(Fortsetzung.)

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm IIIa. | Stamm IIIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, starke, durch die Säuerung hervorgerufene Trübung des Nährbodens. Kolonieen in a punktförmig, in b $^1/_2$ mm, in c $^3/_4$ mm groß | Wie IIIa |
| Molkengelatineplatten bei 20°. Kein Wachstum | Kein Wachstum |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Unregelmäßig konturierte, einem Mycel ähnlich sehende bräunliche Kolonieen, 0,5—0,6 mm | Wie IIIa |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten sich gleichmäßig entwickelnder Stich, keine Oberflächenausbreitung | Wie IIIa |
| Molkengelatinestich bei 20°. Kein Wachstum | Kein Wachstum |
| Kartoffel bei 30°. Kein sichtbares Wachstum | Kein sichtbares Wachstum |
| Peptonschotte bei 30°. Schwache Trübung, schwacher Ring, keine Decke, starker Bodensatz. 8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen kein Wachstum | Starke Trübung, starker Bodensatz, Decke und Ring vorhanden. 8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen kein Wachstum |
| Nährbouillon bei 30°. Sehr schwache Trübung, kein Ring, keine Decke, schwacher Bodensatz | Starke Trübung, sehr starke Decke, starker Ring, schwacher Bodensatz |



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Stäbchen, nicht sehr häufig zu zweien, meist als 4—12 gliedrige Kettchen vorkommend, deren Einzelglieder 0,9—1,5 × 0,7—0,9 μ groß sind, auch einzeln in gleichen Dimensionen vorkommend. Typische Spitzchen auch bei kettenförmiger Anordnung | Ziemlich häufig als Doppelstäbchen mit sehr schönen Spitzchen, häufiger aber zu 4-gliedrigen Kettchen angeordnet; durchschnittlich 0,9—1,3 × 0,7—1 μ; daneben wie bei IIIa bis 2 μ haltende Involutionsformen |
| Peptonschottenagarplatten. Typische Doppelstäbchen, 1,2—2 × 0,9—1.25 μ, mit sehr schönen Spitzchen, daneben auch ganz kurze Kettchen vorkommend | Wie IIIa, nur sind die Kettchen etwas länger und deren Einzelglieder ziemlich unregelmäßig gestaltet |
| Milchzuckeragarstich. Heterogene Formen und Dimensionen; Einzelstäbchen 1—1,2 × 0,9—1,1 μ; Doppelstäbchen 1—2 × 0,8—1,2 μ; Kettchen von 4—10 Gliedern, 0,7 × 0,6—0,7 μ; ganz kurze mit langen verbunden; Involutionsformen | Hier ist die Mannigfaltigkeit in Form und Größe eine noch weitgehendere. Einzelstäbchen von 1—5 μ Länge und 0,8—2 μ Breite neben ebensogroßen Doppelstäbchen. Involutionsformen |
| Kartoffel. Ebenfalls Involutionsformen von gleichen Dimensionen wie die obigen | Wie III a |
| Peptonschotte. Als Ketten von 20—40 Gliedern vorkommend; in Form und Größe verschieden; einige Ketten zeigen Glieder von 1,6—1,8 μ Länge und 1 μ Breite. Die einzelnen Kettenglieder hängen entweder mit ihrer ganzen Breite aneinander oder sind durch kleine Spitzchen miteinander verbunden | Ebenfalls Ketten von 20—30 Gliedern; Stäbchen 1,2 × 0,8—1 μ, ohne typische Spitzchen |
| Nährbouillon. Bröckelig angeordnete Stäbchen, 1,1—1,2 × 0,8—0,9 μ | 30—40-gliedrige Ketten, deren Einzelglieder ziemlich scharf voneinander abgeschnürt sind, 0,9—1,8 × 0,9—1,1 μ, ohne Spitzchen, auch Involutionsformen |
| Milch bei 20, 30 und 37°. Typische Doppelstäbchen, 1,1—1,2 × 0,8—0,9 μ mit schönen Spitzchen versehen | Wie IIIa |

(Folgt Tabelle III p. 630, 631.)

## IV. Güntheri aus jungem, kleereichem Gras.

Auch das Auffinden dieser Stämme bereitete uns anfänglich Schwierigkeiten, nicht etwa weil in den darauf untersuchten Grasproben keine Güntheri vorhanden waren, sondern weil die daraus isolierten Mikroorganismen immer eine große Anzahl Tage brauchten, bis sie eine damit geimpfte sterile Milch (30°) zum Gerinnen brachten. Diese Tatsache stimmte aber mit den von uns an ein typisches Bacterium Güntheri gestellten Anforderungen in betreff der Gerinnungszeit so schlecht überein, daß wir solche Stämme vorläufig nicht weiter verfolgten. Die Isolierung ging in der Weise vor sich, daß wir junges, kleereiches Gras in ein dickwandiges Gärprobenglas fest einstampften, 5 Tage lang in den 30°-Schrank stellten, um nachher aus der gärenden Masse mit Hilfe von Molkengelatineplatten unter Beifügung von kohlensaurem Kalk den gewünschten Typus abzuscheiden. Wir enthoben nun so lange neue Grasproben, bis es uns endlich gelang, zwei Güntheri zu erhalten, welche die Milch nach 2 × 24 Stunden zum Gerinnen brachten; diese zwei Stämme sind es, welche wir für die hier niedergelegten weiteren Untersuchungen benutzten.

Wir stehen nicht an zu behaupten, daß auch die zuerst isolierten Mikroorganismen typische Güntheri waren, die aber infolge der eigen-

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

tümlichen Standortsverhältnisse resp. des Fehlens von vergärbaren Kohlehydraten ihr Säurebildungsvermögen stark eingebüßt hatten. Es ist diese Eigenschaft, wie wir durch spätere Versuche mit Güntheri aus Gras und Kuhkot zeigen werden, eine so variable, daß unsere Ansicht wohl keiner weiteren Begründung bedarf. Um dem Vorwurf zu begegnen, wir hätten unter den „Gras"-Güntheri eine Auswahl getroffen und gerade den häufigsten, durch eine lange Gerinnungszeit ausgezeichneten Typus nicht berücksichtigt, sei vorläufig nur kurz bemerkt, daß in der Folge auch zwei solche Stämme, speziell auf ihr physiologisches Verhalten, eingehend geprüft worden sind.

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm IVa. | Stamm IVb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur, zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, starke, durch Säuerung hervorgerufene Trübung des Agarpfropfens. Kolonieen je nach Verdünnung $^1/_2$—1 mm D. | Wie IVa |
| Molkengelatineplatten bei 20°. Scharf begrenzte, kreisrunde, schwarzbraune Kolonieen von 0,2—0,3 mm D. | Scharf begrenzte, kreisrunde, stark lichtbrechende Kolonieen, 0,2 mm D. |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Scharf begrenzte, unregelmäßige, kompakte, bräunliche Kolonieen, 0,2 mm D. | Wie IVa |
| Molkengelatinestich bei 20°. Ziemlich kräftiges, nach unten abnehmendes Wachstum, keine Oberflächenausbreitung | Wie IVa |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten gleich starkes Wachstum, schwache Oberflächenausbreitung, offenbar auf die große Menge Impfmaterial zurückzuführen | Wie IVa |
| Kartoffel bei 30°. Nach 5 Tagen deutlich sichtbares, wenn auch nicht sehr starkes, streifenförmiges Wachstum | Wie IVa |
| Peptonschotte bei 30°. Sehr starke Trübung; schwacher Ring, starker Bodensatz, keine Decke. | Sehr starke Trübung, schwacher Ring, ziemlich starker Bodensatz, keine Decke |
| Nährbouillon bei 30°. Sehr starke Trübung, starker Ring, starker Bodensatz, starke Decke | Sehr starke Trübung, schwacher Ring, sehr starker Bodensatz, schwache Decke |

### Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Meist Doppelstäbchen, 1—1,2 × 0,9—1 μ, mit typischen Spitzchen, daneben auch teilweise kürzere, ja fast kokkenähnliche Einzelindividuen | Stäbchen, einzeln und zu zweien, 0,9—1,2 × 0,8—0,9 μ, ohne daß typische Spitzchen überall vorhanden wären; auch diplokokkenähnliche Gebilde |
| Molkengelatineplatten. Doppelstäbchen, 1,2 × 0,8—0,9 μ, mit Spitzchen, daneben auch teilweise kürzere, ja fast kokkenähnliche Einzelindividuen | Einzelstäbchen mit zugespitzten Enden, 1,2 × 0,9—1 μ; daneben auch Doppelstäbchen ohne Spitzchen, 1 × 0,9 μ |
| Peptonschottenagarplatten. Doppelstäbchen mit Spitzchen, 1,2 × 0,9 μ. Daneben auch Einzelstäbchen, oft bis 1,8 μ lang | Stäbchen, einzeln und zu zweien, mit kleinen Spitzchen, 1,2—1,6 × 1 μ. |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur in

| | Stamm IIIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | |
| 20° | 12 Tage | Nicht geronnen | 3,8 | 10 Tage | Geronnen, aber noch schwach fließend | 7 | |
| 30° | 35 Std. | Fest geronnen | 8,1 | 40 Std. | Wie oben | 8 | |
| 37° | 24 „ | Geronnen, aber noch etwas flüssig in den oberen Partieen | 7,2 | 17 „ | Fest geronnen, mit schwacher Serumausscheidung | 7,3 | |

Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung 4,1
Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen 8

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm IIIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 1. Best. Nov. 05 | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 2. Best. Dez. 05 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 3. Best. Jan. 06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Schwache Trübung, starker flockiger Bodensatz | 30—40-gliedrige Kettchen mit längl. Gliedern, a. gruppenweise angeordnet | 5,3 | 5,3 | 5 | 5,2 |
| Lävulose | Fast klar, schwacher griesigflock. Bodensatz | Lange Kettchen, auch in bröckelartigen Gruppen | 1,4 | 3,5 | 3,2 | 3,4 |
| Laktose | Griesig flockige Trübung, ebensolcher sehr stark. Bodensatz | Doppelstäbchen, 10–15-gliedrige Kettchen, gruppenw. angeordn. | 5 | 5 | 6.4 | 6,6 |
| Maltose | Sehr schwaches Wachstum | — | 0 | 0,5 | 0 | 0 |
| Saccharose | Griesig flockig getrübt, sehr stark. Bodensatz | Sehr lange Ketten mit längl. Glied. bröck. angeordn. | 3,2 | 4,5 | 5 | 5 |
| Arabinose | Kein Wachstum | — | 0,4 | 1,4 | 1 | 1 |
| Mannit | „ „ | — | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | „ „ | — | 0 | 0 | 0 | 0 |

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

III.
aus Emmentaler Käse.
sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.

| Stamm IIIb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 12 Tage | Nicht geronnen | 3,8 | 10 Tage | Noch nicht geronnen | — |
| 35 Std. | Fest geronnen | 9,4 | 24 Std. | Geronnen, aber noch ziemlich fließend | 6,3 |
| 24 „ | Ziemlich fest geronnen | 7,5 | 17 „ | Fest geronnen, mit schwachem Serumring | 7,2 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 6,2 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 6 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
geimpften Gläschen im 30°-Schrank.

| Stamm IIIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Wie III a | Bis 30-gliedrige Kettchen, längliche und rundliche Glieder | 3,5 | 4,2 | 8,2 | 8,6 |
| Lävulose | Wie III a | Involvierte Kettchen | 1,8 | 3,6 | 4,6 | 4,2 |
| Laktose | Starke Trübung, sehr starker flockig griesiger Bodensatz | Sehr lange Kettchen mit rundlichen und länglichen Gliedern | 4,2 | 4,4 | 7,4 | 7,6 |
| Maltose | Kaum sichtbares Wachstum | — | 0,7 | 0,5 | 0 | 0 |
| Saccharose | Griesig flockige Trübung, stark. Bodensatz | Wie III a | 6,2 | 3,4 (8,5) | 3,8 | 3,6 |
| Arabinose | Kein Wachstum | — | 0,3 | 1,3 | 1 | 1 |
| Mannit | „ „ | — | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | „ „ | | 0 | 0 | 0 | 0 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragarstich. Einzelstäbchen in verschiedenen Dimensionen vorkommend, 1—3 × 0,9—1,2 μ; auch sehr typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, 1,2—1,3 × 0,8—0,9 μ; daneben 4—5-gliederige Kettchen, die einzelnen Kettenglieder so lang als breit | Stäbchen, meist zu zweien, 1—1,2 × 0,9—1,2 μ, ohne Spitzchen; daneben 6—8-gliederige Kettchen, die Kettchenglieder sogar breiter wie lang. 8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen findet man Doppelindividuen von mehr länglichem oder rundlichem Aussehen, ohne Spitzchen, daneben auch ganz kleine Kettchen. Die Dimensionen schwanken zwischen 1,2 × 0,9 und 1 × 1 μ |
| Molkengelatinestich. Stäbchen, zu zweien und einzeln vorkommend, 1,2—1,5 × 0,9—1 μ, mit teilweise schönen Spitzchen oder doch wenigstens Andeutungen dazu | Stäbchen, meist zu zweien, auch einzeln, gewöhnlich 1 × 0,9 μ, daneben auch solche, die so lang sind wie breit, ja breiter als lang, 1,1—1,2 × 0,9 μ oder 1 × 1,1 μ; auch 4—6-gliederige Kettchen |
| Kartoffel. Meist Einzelstäbchen, 0,7—2 × 0,5—1 μ; daneben auch einzelne Doppelstäbchen mit Spitzchen | Einzelstäbchen, 0,6 × 0,5—0,8 μ, unregelmäßig gestaltet; Doppelstäbchen mit Spitzchen, 0,7—0,9 × 0,5—0,7 μ |
| Peptonschotte. Sehr typisches Güntheri, meist Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, 1—1,2 × 0,7—0,8 μ | Doppelstäbchen ohne typische Spitzchen, 1—1,2 × 0,8—0,9 μ |
| Nährbouillon. Nur Doppelstäbchen ohne Spitzchen, 1—1,2 × 0,8—0,9 μ, auch kokkenähnliche Gebilde | Fast diplokokkenähnliche Gebilde, nur sind die Einzelglieder ziemlich scharf voneinander abgeschnürt |
| Milch bei 20, 30 und 37°. Typische Doppelstäbchen mit Spitzchen, 1—1,2 × 0,7—0,8 μ | Wie IVa |

(Folgt Tabelle IV. p. 634, 635.)

## V. Bacterium Güntheri aus Kuhkot.

Da ein Teil der uns gestellten Aufgabe darin bestand, einen Beitrag zu liefern zur Frage der Stellung des Bacterium Güntheri zu den Streptokokken, so lag es auf der Hand, für unsere Untersuchungen Streptokokken solcher Fundorte zu wählen, die denen des Bact. Güntheri nicht allzufern stehen. Daß von diesem Gesichtspunkte geleitet unsere Wahl in erster Linie auf den Streptococcus des gelben Galtes (Streptococcus agalactiae) fiel, ist wohl selbstverständlich. Durch die Arbeiten von Gröning (16) und Steiger (42) auf einen im Kuhkot vorkommenden Streptococcus aufmerksam gemacht, schien uns dieser als Vergleichsstamm sehr geeignet. Um ihn zu isolieren, untersuchten wir die festen Exkremente einer großen Anzahl Kühe verschiedener Ställe, allein ohne Erfolg. Wir fanden neben einer Reihe anderer Mikroorganismen fast immer das Bact. Güntheri, das freilich ab und zu so streptokokkenähnlich aussah, daß eine Verwechslung der beiden begreiflich war. Wenn wir schon sicher zu sein glaubten, in einem ganz kettenförmig aussehenden Präparate das Gewünschte gefunden zu haben, stellte es sich in der Folge immer als ein ganz gewöhnliches Bact. Güntheri heraus, so daß wir uns schließlich sagen mußten, die von Gröning in den hinteren Abteilungen des Dünndarmes und im Dickdarm gefundenen Streptokokken seien ebensowenig Streptokokken wie die von Steiger aus dem Pansen isolierten Bakterien. Unsere Auffassung wurde durch eine Arbeit von Ankersmit (2) bekräftigt, welcher wohl massenhaft das Bact. Güntheri, nicht aber Streptokokken im Verdauungstraktus des Rindes nachzuweisen vermochte.

Wir erhielten also bei der Verarbeitung von Kuhkot aus den für Streptokokkenisolierung geeigneten Agarplatten statt der erhofften Strepto-

Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

kokken immer Organismen, für welche kein Grund vorlag, sie als etwas anderes als gewöhnliche Bact. Güntheri zu betrachten. Zwei solcher Stämme bilden den Gegenstand der folgenden Untersuchungen.

## Kulturelles Verhalten.

| Stamm Va. | Stamm Vb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Die Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung. Kolonieen je nach Verdünnung $^1/_2$—1 mm D. | Wie Va |
| Molkengelatineplatten bei 20°. Kreisrunde, scharf begrenzte Kolonieen von bräunlicher Farbe; Oberflächenkolonieen von 0,3 mm D. Tiefenkolonieen 0,6 mm D. | Wie Va |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Oberflächenkolonieen von unregelmäßigem, schwammig-flockigem Aussehen und bräunlicher Farbe; Tiefenkolonieen mehr kreisrund, kompakter, 0,05—0,2 mm D. | Wie Va |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Ziemlich kräftiges, nach unten hin abnehmendes Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie Va |
| Molkengelatinestich bei 20°. Ziemlich kräftiges, gleichmäßiges Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie Va |
| Kartoffel bei 30°. Ausgesprochenes, aber doch nicht sehr starkes Wachstum, an weißen, ziemlich dünnen Streifen erkenntlich | Sehr spärliches Wachstum |
| Peptonschotte bei 30°. Schwache Trübung, Decke, Ring, starker Bodensatz | Schwache Trübung, keine Decke, schwacher Ring, starker Bodensatz |
| Nährbouillon bei 30°. Sehr starke Trübung, schwache Decke, ausgesprochener Ring, ziemlich starker Bodensatz | Schwache Trübung, keine Decke, schwacher Ring, schwacher Bodensatz |

## Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Meist typische, mit schönen Spitzchen versehene Doppelstäbchen, 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ; daneben auch teils abgerundete, teils längliche Einzelstäbchen; in beiden Fällen auffallend starke Molekularbewegung | Wie Va |
| Molkengelatineplatten. Wie oben. | Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, entweder 1,2 × 0,8—0,9 μ oder 0,8—0,9 × 0,7—0,7 μ; daneben auch Einzelstäbchen, 0,9 × 0,7 μ |
| Peptonschottenagarplatten. Doppelstäbchen mit deutlichen Spitzchen, 1,3 × 0,9—1 μ, auch einzeln 2 × 1,25 μ | Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, entweder 1,2 × 0,8 oder 0,9 × 0,6—0,7 μ, daneben auch Einzelstäbchen, 0,9 × 0,7 μ |
| Milchzuckeragarstich. Doppel- und Einzelstäbchen, im ersten Falle 1 × 0,8 oder 1,8—2 × 0,9 μ, mit oder ohne Spitzchen; im zweiten Falle meist von unregelmäßiger Form, hie und da ganz kokkenartige Gebilde, 1 × 0,8 oder 1 × 0,9—1 μ, daneben auch solche von 2 × 1,1 μ | Doppelstäbchen mit typischen Spitzchen oder wenigstens Spitzchenandeutung, 0,8—1 × 0,6—0,7 μ, daneben auch solche 2 × 1—1,1 μ; Einzelstäbchen gewöhnlich 1 × 0,8—0,9 oder dann 2,5 × 1—1,3 μ, 8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen ist das Bild ein ausgeglicheneres |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Tabelle**

**Physiologisches Verhalten der Gün-**

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Temp. | Stamm IVa: Mai 1905: Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Februar 1906: Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 20° | 8 Tage | Schwach fließ. geronnen | 8,3 | 12 Tage | Schwach fließ. geronnen | 7,7 |
| 30° | 55 Std. | „ „ „ | 6,7 | 64 Std. | „ „ „ | 6,5 |
| 37° | 30 „ | Dickflüssig geronnen | 7,2 | 46 „ | Mit schwacher Serumausscheidung geronnen | 5,5 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 4,7 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 6,4 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der ge-

| Stamm IVa: Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad: 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad: 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dextrose | Trübung 3, griesig flockiger Wandbelag. Bodensatz | Typische Güntheri | 10 | 9,2 | 11 | 12 |
| Lävulose | Trübung 1, griesig flockiger Wandbelag Bodensatz | Schöne Güntheri nebst involvierten Kettchen | 11 | 9,2 | 12 | 12 |
| Laktose | Trübung 2, wie oben | Typische Güntheri | 5,3 | 6,2 | 6 | 6,1 |
| Maltose | Trübung 1, wie oben | Schöne Güntheri, gruppenweise angeordnet | 8,4 | 6,4 (11) | 7 | 6,8 |
| Saccharose | Trüb. 1—2, wie oben | Wie oben | 6,9 | 6,8 (11,5) | 7 | 7,2 |
| Arabinose | Trübung 3—4, sehr starker, flockiger Bodensatz | Schöne Güntheri, kleine Kettchen | 3,9 | 4,2 | 5 | 4 |
| Mannit | Diffuse Trübung 3; schleimig flockiger Bodensatz | Schöne Güntheri | 2,4 | 3,2 | 4 | 3,8 |
| Glycerin | Trübung 2; starker Bodensatz | Schöne Güntheriformen neben ziemlich langen streptokokkenähnl. Kettchen | 0,2 | 0,3 | 1 | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV.

**theri aus jungem, kleereichem Gras.**

Kultur in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.

| Stamm IVb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 12 Tage | Schwach fließend, geronnen | 9,9 | 5 Tage | Schwach fließend geronnen | 10 |
| 72 Std. | Noch schwach fließend, geronnen | 7,4 | 40 Std. | Fest mit Serumring geronnen | 7,8 |
| 30 „ | Dickflüssig geronnen | 9,8 | 24 „ | Fest geronnen | 9 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 7,1 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 7,4 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.

impften Gläschen im 30°-Schranke.

| Stamm IVb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trübung 2; starker Bodensatz | Typische Güntheri | 9,8 | 9,5 | 9,4 | 9 |
| Lävulose | Diffuse Trübung 3; starker Bodensatz | „ „ | 8,8 | 9,2 | 9 | 9 |
| Laktose | Wie oben | „ „ | 4,8 | 5,6 | 6 | 6 |
| Maltose | Wie oben | „ „ | 6,7 | 6,4 | 6,4 | 7 |
| Saccharose | Bouillon klar, schwacher, schleimiger Bodensatz | Sehr typ. Güntheri | 6,8 | 7 | 0 | 0 |
| Arabinose | Diffuse Trüb. 2—3; starker Bodensatz | „ „ „ | 4,8 | 6,1 | 6 | 6 |
| Mannit | Diffuse Trübung 3 | Güntheri u. Kettchen | 2,3 | 3,2 | 3,6 | 4 |
| Glycerin | „ „ 2 | „ „ „ | 0,1 | 0,3 | 1 | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| Molkengelatinestich. Meist typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, daneben auch Einzelindividuen von 0,9—1,2×0,7—0,9 μ | Sehr schöne Güntheri mit ausgeprägten Spitzchen |
| Kartoffel. Doppelstäbchen mit teilweise schönen Spitzen, 1,2—0,9 μ, daneben sehr unregelmäßige Einzelstäbchen, 0,8—2×0,7—1 μ | Doppelstäbchen ohne eigentliche Spitzchen, 1,2×0,9 μ; Einzelstäbchen von unregelmäßiger Form 0,9—1×0,7 μ, auch 4-gliedrige Kettchen |
| Peptonschotte. Häufig mit schönen Spitzchen versehene Doppelstäbchen, 1,2×0,8—0,9 μ, daneben mehr rundliche Einzelstäbchen, 1—1,1×0,8—0,9 μ | Typische, gruppenweise angeordnete Doppelstäbchen mit Spitzchen 1,2×0,9 μ |
| Nährbouillon. Doppelstäbchen, sehr gedrungen, ohne eigentliche Spitzchen, oft so lang wie breit, 1—1,1×0,9—1 μ | Wie Va |
| Milch bei 20°, 30° und 37°. Typische Güntheri, 1,2×0,8 μ | Sehr typische Güntheri 1,2×0,9 μ, mit schönen Spitzchen |

(Folgt Tabelle V p. 638, 639.)

## VI. Bacterium Güntheri aus Milch von Kühen, die während einer längeren Zeit sich durch Güntheri-Reichtum ausgezeichnet hatte.

Die nähere Verfolgung solcher Güntheri-Stämme schien in zweifacher Beziehung sehr wünschenswert. Ein Bact. Güntheri, aus einer Kuhmilch stammend, die sich während einer längeren Zeit schon unmittelbar nach dem Melken durch Güntheri-Reichtum ausgezeichnet hat, darf als der Milchdrüse besonders angepaßt und vielleicht noch mit größerem Recht als Normaltypus bezeichnet werden als ein aus irgend einer bei 20 oder 37° aufgestellten Marktmilch isolierter Mikroorganismus, der ja schließlich nicht notgedrungen direkt aus dem Kuheuter, sondern durch diesem anhaftende Unreinlichkeiten in die Milch hineingelangt sein kann. Die Hoffnung, dabei eventuell noch einen kleinen Beitrag zur Frage der stinkenden Gärproben zu liefern, war ein zweiter Grund, der uns die Untersuchung eines solchen Güntheri nahelegte. Es ist schon konstatiert worden, daß Gärproben mit anscheinend normaler Güntheri-Gerinnung einen stinkenden Geruch aufweisen, und es lag die Vermutung nahe, daß dieser unangenehme Geruch ein spezifisches Produkt von Güntheri-Rassen sei, die sich im Euter vereinzelter Milchtiere angesiedelt hatten.

Zum Zwecke der Isolierung der gewünschten Bakterien legten wir an 5 verschiedenen Tagen aus der von 10 Kühen je morgens aus der Mitte des Gemelkes in sterile Gläser gemolkenen Milch Molkengelatineplatten mit kohlensaurem Kalk vermischt an und stellten diese während 3—4 Tagen in den Brutschrank zu 20°. Während die Platten gewisser Kühe bei allen 5 Versuchen keine oder nur wenig Güntheri verratende Kolonieen aufwiesen, fielen uns schon das erste Mal bei 3 Tieren mit Güntheri überaus reich besetzte Platten auf, von denen sich in den Wiederholungen die Befunde bei zweien, den Kühen „Liesi“ und „Waldi“, bestätigten. Die Reinkulturen dieser so isolierten Güntheri sind es denn auch, die, wie dies bei den früheren Stämmen geschehen, nach den bekannten Gesichtspunkten weiter untersucht wurden. Eine 10 Monate später durchgeführte Untersuchung über den Güntheri-Reichtum unserer Versuchstiere fiel insofern in bestätigendem Sinne aus, als die eine Kuh die früher konstatierte Eigenschaft in keiner Weise eingebüßt hatte, während die andere, weil inzwischen geschlachtet, nicht weiter verfolgt werden konnte.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Kulturelles Verhalten.

| Stamm VIa von „Liesi“. | Stamm VIb von Waldi. |
|---|---|
| **Milchzuckeragar** (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, je nach Verdünnung Kolonieen von $^1/_2$—$^3/_4$ mm D. | Wie VIa |
| **Molkengelatineplatten** bei 20°. Kreisförmige, scharf begrenzte, bräunliche Kolonieen von 0,2—0,5 mm D. | Kreisförmige, scharf begrenzte Tiefenkolonieen von bräunlicher Farbe, 0,6 mm D. |
| **Peptonschottenagarplatten** bei 30°. Ziemlich scharf begrenzte, aber unregelmäßige Kolonieen von flockig fadigem Aussehen, 0,3 mm D. | Scharf begrenzte, unregelmäßige Kolonieen, wovon einige sich über die Oberfläche auszubreiten scheinen, 0,2 mm D. |
| **Milchzuckeragarstich** bei 30°. Von oben bis unten gleich starkes Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie VIa |
| **Molkengelatinestich** bei 20°. Von oben bis unten gleich kräftiges Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie VIa |
| **Kartoffel** bei 30°. Sehr spärliches Wachstum | Wie VIa |
| **Peptonschotte** bei 30°. Starke Trübung, ziemlich starke Decke, Ring, starker Bodensatz | Wie VIa |
| **Nährbouillon** bei 20°. Sehr starke Trübung, schwache Decke, schwacher Bodensatz, schwacher Ring | Starke Trübung, keine Decke, schwacher Bodensatz, kein Ring |

## Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| **Milchzuckeragar** (H. Sch.). Doppelstäbchen hie und da mit schönen Spitzchen, gewöhnlich 1,2—1,4 × 0,9—1 μ, daneben auch solche von 1,7 × 1,2 μ. Einzelstäbchen in fast Kokkenform vorhanden | Wie VIa |
| **Molkengelatineplatten.** Typische Güntheri mit Spitzchen, 1—1,3 × 0,9 μ | Neben typischen Güntheri auch kokkenartige Gebilde vorkommend |
| **Peptonschottenagarplatten.** Sehr typische Güntheri mit Spitzchen, 1,2 × 0,7 μ | Wie VIa |
| **Milchzuckeragarstich.** Neben fast kokkenähnlichen Einzelindividuen auch Doppelstäbchen mit oft sehr schönen Spitzchen, 1—1,8 × 0,7—0,8 μ. 8 Monate später, nach 8 Ueberimpfungen, weisen die Einzelindividuen die gleichen Dimensionen auf wie früher. Die Doppelstäbchen hingegen sind bedeutend kürzer geworden und haben teilweise ihre Spitzchen eingebüßt | Wie VIa |
| **Molkengelatinestich.** Stäbchen meist zu zweien, gewöhnlich 0,9—2 × 0,7—1,2 μ, mit teilweise sehr schönen Spitzchen, auch einzeln vorkommend, 1,2—1,5 × 0,9—1 μ | Wie VIa |
| **Kartoffel.** Stäbchen, zu zweien, mit sehr schönen Spitzchen, 0,7—1 × 0,6—0,7 μ, auch einzeln vorkommend | Stäbchen, zu zweien, mit schönen Spitzchen, 0,8—1,1 × 0,6—0,8 μ, auch einzeln vorkommend |

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle
**Physiologisches Verhalten**
α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm Va | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 12 Tage | Nicht geronnen | 7,1 | 6 Tage | Etwas fließend geronnen | 8,5 |
| 30° | 5 „ | Fest „ | 5,9 | 40 Std. | „ „ „ | 6 |
| 37° | 48 Std. | „ „ | 5,1 | 40 „ | „ „ „ | 6 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 5 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 6 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter
Nach 8-tägigem Verweilen der

| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 1. Best. Nov. 05 | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 2. Best. Dez. 05 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 3. Best. Jan. 06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 4. Best. Jan. 06 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dextrose | Trübung 1—2, griesig flockiger Wandbelag, gleicher, sehr stark. Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 11,3 | 11,3 | 10,4 | 11 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 12,3 | 12,5 | 12,6 | 12,6 |
| Laktose | Wie oben | Wie oben | 7,3 | 7,1 | 7,4 | 7,2 |
| Maltose | Wie oben | Wie oben | 9,3 | 9 | 7,4 | 7,6 |
| Saccharose | Trübung 3, relat. starker schleimiger Bodensatz | Typ. Güntheri | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Arabinose | Trübung 1, schwacher schleim. Bodensatz | „ „ | 0,1 | 0 | 1,2 | 1 |
| Mannit | Trübung 2, wie oben | „ „ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Trübung 2, sehr schwacher Bodensatz | Typische Güntheri nebst klein. Kettchen | 0 | 0 | 0,4 | 0,4 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

V.
der Güntheri aus Kuhkot.
Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.

| Stamm Vb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 12 Tage | Nicht geronnen | 6,3 | 10 Tage | Schwach fließend geronnen | 10,3 |
| 6 „ | Ziemlich fest geronnen | 5,6 | 64 Std. | „ „ „ | 5 |
| 48 Std. | Schwach fließend geronnen | 5 | 40 „ | „ „ „ | 5 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 4,2 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 6,1 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
geimpften Gläschen im 30°-Schrank.

| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Eytraktbouillon + Kohlehydrat | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Trübung 1—2, griesig flockiger Wandbelag, gleicher, sehr stark. Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 11,6 | 12 | 11,6 | 11 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 12,4 | 12,4 | 12,8 | 12 |
| Laktose | Wie oben | Wie oben | 7,4 | 7 | 6,6 | 6,2 |
| Maltose | Wie oben | Wie oben | 9,3 | 9,5 | 8 | 8 |
| Saccharose | Trübung 2, relat. starker schleimiger Bodensatz | Typ. Güntheri | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Arabinose | Trübung 1, schwacher, schleimiger Bodensatz | „ „ | 0 | 0 (1) | 0 | 0 |
| Mannit | Trübung 2, schwacher, schleimiger Bodensatz | Sehr typische Güntheri | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Wie oben | Typische Güntheri u. kleine Kettchen | 0 | 0 | 1 | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| Peptonschotte. Stäbchen, zu zweien, auch bröckelig angeordnet, 1—1,8 × 0,8 —1 μ, hie und da, namentlich bei den kürzeren, mit sehr schönen Spitzchen | Typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, 1,2 × 0,8—0,9 μ, daneben auch rundliche Individuen, 1—1,1 × 0,9 μ |
| Nährbouillon. Stäbchen, 0,9—1,1 × 0,8—1 μ, zu zweien, hie und da mit Spitzchenandeutung oder wenigstens scharfer Abschnürung, auch gruppenweise angeordnet | Stäbchen, zu zweien, 1,1 × 0,9—1,1 μ, hie und da kleine Spitzchen vorkommend |
| Milch bei 20, 30 und 37°. Bei 20° Doppelstäbchen, 1,2 × 0,9 μ; bei 30° Doppelstäbchen, 1,1—1,3 × 0,8—0,9 μ; bei 37° 0,8—1,1 × 0,6—0,7 μ | Doppelstäbchen, 0,9—1 × 0,7—0,8 μ, hie und da fast kokkenähnliche Formen zeigend |

(Folgt Tabelle VI p. 642, 643.)

## VII. Güntheri-ähnlicher Organismus, von an Sauerbrut erkrankten Bienenlarven stammend.

Durch die Güte des Herrn Prof. Dr. Burri gelangten wir in den Besitz zweier Reinkulturen eines Güntheri-ähnlichen Stäbchens, das gelegentlich seiner Untersuchungen über die Sauerbrut, einer bisher wenig bekannten Bienenkrankheit, isoliert worden war. Der betreffende Organismus ist von Prof. Burri (8) vorläufig als „Sauerbrut-Güntheri" bezeichnet worden, weil er sich in morphologischer und zum Teil kultureller Hinsicht stark an das Bacterium Güntheri anlehnt. In physiologischer Beziehung unterscheidet er sich von diesem allerdings in einem Grade, daß ihm vorläufig eine gewisse Sonderstellung eingeräumt werden muß. Nämlich statt in sterilisierter Milch das homogene Koagulum hervorzurufen, wie es das ihm in mehrfacher Beziehung so nahe stehende Bacterium Güntheri tut, zerlegt dieser Organismus mit einem peptonisierenden Enzym das Kasein in lösliche Produkte, welchem Prozeß eine mehr oder weniger deutliche Kaseinfällung durch Bakterienlab voranzugehen pflegt.

Anfänglich lag die Vermutung nahe, daß man es hier statt mit einer Peptonisierung mit einer starken Kontraktion des ausgefällten Kaseins zu tun habe. Der Umstand aber, daß mit kleinen Dosen steriler Milch vermischte, mit dem in Frage stehenden Organismus geimpfte Agarplatten nach kurzer Zeit von einer deutlichen Aufhellungszone umgebene Kolonieen aufwiesen, zeigte sofort, daß hier eine Auflösung resp. Peptonisierung im Spiele sei. Die konstatierte Gelatineverflüssigung, sowie der auffallend bittere Geschmack einer 48 Stunden alten Reinkultur waren fernerhin geeignet, das Vorhandensein einer Enzymwirkung zu bestätigen.

Dieser eigentümliche Organismus, der morphologisch durchaus mit Bacterium Güntheri übereinstimmt, physiologisch aber sich durch ein ausgesprochenes Peptonisierungsvermögen weit von ihm zu entfernen scheint, hatte allen Anspruch darauf, mit in den Kreis unserer Güntheri-Studien gezogen und mit echten Güntheri-Typen in Vergleich gestellt zu werden.

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm VIIa. | Stamm VIIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Die Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung. Kolonieen je nach Verdünnung bis $^3/_4$ mm D. | Wie VIIa |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| Molkengelatineplatten bei 20°. In der Durchsicht braunrot bis braunschwarz gefärbte, runde, scharf begrenzte Kolonieen von einer ziemlich großen Verflüssigungszone eingeschlossen | Wie VIIa |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Scharf konturierte, Schollenstruktur zeigende Kolonieen, bis 0,8 mm D., sowohl als Oberflächen- wie auch als Tiefenkolonieen vorhanden | Die besonders zahlreichen Oberflächenkolonieen zeigen eigentümliche Strichelung, sind kreisrund, scharf konturiert. Die Tiefenkolonieen weisen die bei Stamm VIIa erwähnte Schollenkultur auf; bis 0,8 mm D |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Gleichmäßig starkes Wachstum in der ganzen Länge des Stichkanals, keine eigentliche Oberflächenausbreitung | Gleichmäßig starkes Wachstum von oben bis unten, keine eigentliche Oberflächenausbreitung |
| Molkengelatinestich bei 20°. Strumpfförmige Verflüssigung, die ursprüngliche Wachstumszone noch an einem feinen, flockigen Mantel erkenntlich | Wie VIIa |
| Kartoffel bei 30°. Nach 5 Tagen ziemlich starkes Wachstum | Wie VIIa |
| Peptonschotte bei 30°. Starke Trübung, keine Decke, schwacher Bodensatz | Wie VIIa |
| Nährbouillon bei 30°. Starke Trübung, kein Ring, keine Decke, schwacher Bodensatz | Wie VIIa |

Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Meist als Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, 0,8—1 × 0,6—0,7 μ, darunter auch abgerundete Einzelstäbchen vorkommend, starke Molekularbewegung | Wie VII |
| Molkengelatineplatten. Sehr schöne Doppelstäbchen mit typischen Spitzchen, 0,9—1,1 × 0,7 μ; daneben auch rundliche Einzelindividuen von 0,8 × 0,7 μ vorkommend | Wie VII |
| Peptonschottenagarplatten. Zu zweien und einzeln vorkommend, im ersten Falle 0,9—1,1 × 0,6—0,7 μ, mit kleinen Spitzchen versehen; wenn einzeln, fast kokkenähnlich, 1 × 0,9 μ; daneben auch längere Stäbchen, 1,5—1 μ | Doppelstäbchen mit sehr typischen Spitzchen, 0,8—1,2 × 0,6—0,9 μ; daneben Einzelstäbchen, 0,8—1,2 × 0,6—1 μ, einige fast so lang wie breit. 8 Monate später, nach 8 Ueberimpfungen, gleiches Bild |
| Milchzuckeragarstich. Stäbchen, einzeln, 1—2 × 0,8—0,9—1,2 μ; Doppelstäbchen, 0,8 × 0,6 μ; daneben auch solche von 1—1,2 × 0,9 μ, mit typischen Spitzchen | Stäbchen, einzeln, 0,8—1,2 × 0,6—1 μ; Doppelstäbchen, 0,8—1,2 × 0,6—0,9 μ, mit sehr langen Spitzchen |
| Molkengelatinestich. Meist Doppelstäbchen mit sehr schönen Spitzchen, 0,9—1,2 × 0,6—0,8 μ, auch einzeln, 1,2—1,5 × 0,9—1 μ | Wie VIIa |
| Kartoffel. Einzelstäbchen, 0,6—0,7 × 0,5—0,6 μ; Doppelstäbchen mit Andeutung von Spitzchen in obigen Dimensionen | Wie VIIa |



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri aus Milch von Kühen, die während

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur

| Stamm VIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 12 Tage | Nicht geronnen | 6,8 | 9 Tage | Dünnflüssig geronnen | 8 |
| 30° | 5 „ | Fest geronnen | 7,9 | 64 Std. | Mit kleinem Serumring geronnen | 5 |
| 37° | 48 Std. | Schwach fließ. geronnen | 5 | 40 „ | Desgl. | 4 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 4,7 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 5,9 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der ge-

| Stamm VIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trüb. 1—2; sehr starker, griesig-flockiger Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 11 | 12,9 | 11,4 | 11,4 |
| Lävulose | Diffuse Trüb. 1—2; starker, flockig-schleim. Bodensatz | Desgl. | 11,7 | 11,8 | 12 | 11,6 |
| Laktose | Wie oben | Desgl. | 6 | 7,1 | 6,2 | 6,4 |
| Maltose | Diffuse Trübung 1; sehr starker, flock.-schleim. Bodensatz | Desgl. | 8,4 | 9,2 | 8,4 | 8,2 |
| Saccharose | Diffuse Trübung 2; schwacher, schleimig-flockiger Bodensatz | Desgl. | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Arabinose | Diffuse Trüb. 1—2; starker, schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri, auch kleine, 5—8-gliederige Kettchen | 0,2 | 1,2 | 1,2 | 0,8 |
| Mannit | Diffuse Trübung 1; schwacher, schleimiger Bodensatz | Wie oben; neben typischen Güntheri auch 5—8-gliederige Kettchen | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Wie oben | Wie oben | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 0,8 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**VI.**
**einer längeren Zeit sich durch Güntheri-Reichtum ausgezeichnet hatte.**
**in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.**

| Stamm VIb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 12 Tage | Nicht geronnen | 6,8 | 12 Tage | Schwach fließend geronnen | 9 |
| 5 „ | Fest geronnen | 6,4 | 74 Std. | „ „ „ | 4,5 |
| 48 Std. | Geronnen | 5,5 | 40 „ | „ „ „ (Serumring) | 5,4 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 5,3 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 6,3 |

**Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.**
**impften Gläschen im 30°-Schranke.**

| Stamm VIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Griesig diffuse Trübung 1, sehr starker, griesig flockiger Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 11 | 12,5 | 12,4 | 11,8 |
| Lävulose | Wie oben | Desgl. | 11,7 | 12 | 11,8 | 11 |
| Laktose | Wie oben | Desgl. | 6 | 7,4 | 7 | 6,8 |
| Maltose | Diffuse Trübung 1; starker, flockig-schleim. Bodensatz | Desgl. | 8,5 | 10 | 8 | 8,1 |
| Saccharose | Diffuse Trübung 1; schwacher, schleimig-flockiger Bodensatz | Typische Güntheri u. kleine Kettchen | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Arabinose | Diffuse Trübung 1; schwacher, schleimiger Bodensatz | Wie oben | 0,2 | 1,5 | 1 | 1,4 |
| Mannit | Diffuse Trübung 1; schwacher, flockig-schleim. Bodensatz | Typische Güntheri u. kleine Kettchen mit runden Gliedern | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Wie oben | Wie oben; nur sind die Kettchen bis 10-gliederig, ganz streptokokkenähnl. | 0,2 | 1 | 0,6 | 0,6 |

(Schluß folgt.)



Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

# Beitrag zur Identifizierung des Bacillus mesentericus ruber.

Von Dr. **Th. Gruber,** Hamburg.

Die völlig einwandsfreie Sterilisierung der Milch bezw. der Magermilch bietet in den einzelnen Jahreszeiten kaum überwindbare Schwierigkeiten, insofern immer ungefähr der Jahreszeit entsprechend sporogene Bakterienkategorieen sich einfinden und so die Möglichkeit nehmen, Milch bei 98° in strömendem Dampfe steril zu erhalten. In der Erhitzung unter Druck bei 121° während einer Zeitdauer von 10 Minuten ist allerdings ein Mittel an die Hand gegeben, sämtliche Sporen jeder Bakterienspecies endgültig zu töten, doch zwei empfindliche Nachteile stellen sich hierbei ein: 1) wird die Milch und vorzugsweise die Magermilch infolge der Karamelisierung des Milchzuckers sehr braunrot — wohl noch zu wissenschaftlichen Zwecken geeignet, nicht aber für Milch, die in Verkehr gebracht werden soll — und 2) ist es nicht möglich, die Milchflaschen bei einer oder anderen Art der Oeffnung des Autoklaven vor dem Ueberkochen zu bewahren. Für eine Sterilisierung im großen, z. B. Flaschen mit $^3/_4$ l Inhalt, zur Anfertigung für Reinkulturen zur Rahmsäuerung restiert mithin nur noch die Siedetemperatur während einer längeren Zeit, welche ich zu dem speziellen, oben angeführten Gebrauch mit 60 Minuten bemessen mußte, denn eine noch längere Erhitzung schadet schon in sehr bedeutendem Maße der Farbe der Milch, ohne einen größeren Einfluß auf die Abtötung der Sporen auszuüben. Diese so erhitzten Milchflaschen mußten auf Sterilität geprüft werden und es stellte sich heraus, daß eine 14-tägige Aufbewahrung bei 34° genügend war, eine wirkliche Sterilität erreicht zu haben, wenn keine physiologische Aenderung der Milch zu konstatieren vorlag. Ein großer Prozentsatz, manchmal 80 Proz., der sterilisierten Flaschen zeigte nach der Bebrütungszeit eine tiefgehende Zersetzung, welche sich im Winterhalbjahr in der völligen Auflösung des Kaseins mit starker Gasbildung und in dem Auftreten eines intensiv stinkenden Geruches nach Limburgerkäse oder ab und zu auch unter Ausscheidung des Kaseins in völlig zerklüfteten Stücken und später in der Bildung eines an der Oberfläche sich sammelnden Kuchens ebenfalls mit Gasentwickelung äußerte, welche oft so stark war, daß die Flaschen mit ungeheuer starkem Knalle beinahe in ihre Atome zerfielen. Im Sommerhalbjahr bildete sich in den Flaschen allmählich ein Sediment von koaguliertem Kasein, welches beim Neigen der Flasche beobachtet wurde, auf den ersten Blick konnte sonst äußerlich keine Veränderung konstatiert werden. Das Sediment wurde nach weiterem Bebrüten immer voluminöser und zugleich schwamm auf der Oberfläche eine rosafarbige Zoogloea. Der erste Typus der Zersetzung im Winterhalbjahr rührte von Paraplectrum foetidum her, das neben seiner charakteristischen Zersetzung sofort im Färbepräparate an seinen Plektridien erkennbar war, der zweite Typus kam Clostridium Polymyxa Prazmowsky, einem fakultativen Anaërobion, zu, das auch leicht in seiner Biologie und Physiologie identifiziert wurde. Die rosafarbige Zoogloea mit dem Kaseingerinnsel als dritter Typus der drei beobachteten Zersetzungserscheinungen lag in der Anwesenheit eines Vertreters der Kartoffelbacillusgruppe, des Bacillus mesentericus ruber; eine etwas eingehendere Beschreibung dieser Bakterie konnte ich nirgends vorfinden, und deshalb habe ich dieselbe gemäß meiner Untersuchungen hier genauer detailliert.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es dürfte für die bakteriologische Diagnose von großem Werte sein, der physiologischen Wirkung der einzelnen Bakteriengattungen auf Milch besonderes Interesse entgegenzubringen, da es bei etwas Uebung nicht schwer ist, aus der charakteristischen Zersetzung der Milch, und diese besitzen ja sehr viele Bakteriengruppen, auf die Zugehörigkeit zu einer Gruppe zu schließen.

Ob nun auch die chemische Untersuchung der Zersetzungsprodukte der Milch einen solchen Fingerzeig bietet, mag dahingestellt sein, indem wohl die einzelnen Zersetzungsphasen verschiedene Produkte aufweisen, und gerade diese Untersuchungen der Eiweißprodukte sich auf einem schwierigen Gebiet bewegen.

Ich hatte die Gelegenheit, die völlig zersetzte Milch des obligat anaëroben Paraplectrum foetidum eingehend zu prüfen, ich habe eine Menge Zersetzungsprodukte gefunden, die ich leider nicht hier anführen kann, da mir die Zusammenstellung abhanden gekommen und wohl von anderer Seite veröffentlicht werden dürfte.

Gelatineplatten (15 Proz.) bei 16°.

Verfilzt aussehende, aus feinen, weißen Fäden zusammengesetzte, grauweiße, unregelmäßige Oberflächen- und Tiefenkolonieen durchsetzen die Gelatine nach 6 Tagen. Mikroskopisch besitzen die Kolonieen an der Oberfläche einen runden, homogenen Kern, von ihm gehen fadenartige, zuweilen zopfartig gedrehte, korkzieherartige Ausläufer in die Gelatine. Nach 14 Tagen umgibt eine runde Verflüssigungszone die Oberflächenkolonieen.

Gelatinestrich (15 Proz.) bei 16°.

Nach 2 Tagen bedeckt ein verfilzt aussehender, aus feinen, kleinen, weißen Querfäden bestehender Belagstreifen die Oberfläche, an den Rändern ragen die feinen Fäden in die Gelatine, später dringen unter dem Belage auch die Fäden in die Gelatine, es beginnt eine allmähliche, den Strich umgebende Verflüssigung. Nach 4 Tagen ist eine Rille längs des Impfstriches entstanden, an den Rändern erscheinen die in die feste Gelatine hineinragenden Fäden am Ende verdickt. Die ganze Kultur gleicht um diese Zeit einer Gänsefeder, bei der die einzelnen Fiederteilchen etwas weiter voneinander gestellt sind und selbst wieder eine kleine Feder darstellen.

Mikroskopisch erscheinen diese Fiederfederchen als ährenähnliche Gebilde, am Ende verdickt, wurmartig gedreht und gestaucht.

Gelatinestich (15 Proz.) bei 18—20°.

In der ersten Woche ist das Wachstum im großen und ganzen schlecht; um die Stichöffnung und unter derselben hat sich eine aus feinen Fäden zusammengesetzte kleine Kolonie eingefunden, innerhalb 14 Tagen hat sich die erwähnte Kolonie nach unten gestreckt und einen umgekehrten tannenbaumartigen Habitus angenommen, eine Verflüssigung war nur schwach um die Einstichstelle schalenartig eingetreten, es schreitet dann die Verflüssigung gleichmäßig horizontal weiter, die verflüssigte Zone bleibt hell und klar, ist aber intensiver gelb gefärbt wie die noch feste Partie. Die verflüssigte Oberfläche bedeckt nach 4 Wochen eine grauweiße, matte, gefaltete und gerunzelte, zähe und zusammenhängende Haut. Die Ausläufer des tannenartigen Gebildes sind mikroskopisch denen in Gelatinestrich völlig gleich.

Agarstrich. 24 Stunden bei 34°.

Ueber die ganze Oberfläche des Nährbodens hat sich eine gefaltete und gerunzelte, grobe, dicke, zusammenhängende Haut ausgebreitet, in

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welcher einige wässerige, fadenziehende, schleimig aussehende Stellen eingebettet sind, die nach weiteren 2 Tagen bei 10—20° das Aussehen der schon erwähnten Haut angenommen haben. Nach und nach beginnt auch eine Braunfärbung des Nähragars. Nach 24 Stunden besitzen die Einzelbakterien deutliche Eigenbewegung, die Cilien sind am ganzen Körper verteilt; die Stäbchen besitzen die verschiedenartigsten Längen, parallele Seiten und abgerundete Enden, sehr häufig findet man Diplostäbchen und Ketten in kleinen Dimensionen. Sporenbildung, und zwar zentrale, tritt in älteren Kulturen ein.

Agarstrich mit 10 Proz. Milch.

Das Wachstum ist genau dasselbe wie auf gewöhnlichem Agar, nur wird das im Nährboden suspendierende allmählich gelöst, nach 3 Wochen ist der Nährboden völlig aufgehellt und intensiv braun tingiert, mithin sind proteolytische Enzyme vorhanden.

Agar-Tupfkolonieen. 5 Tage bei 16—20° C.

Der Habitus sämtlicher Kolonieen ist blattähnlich; im Innern der $^1/_2$—1 cm großen Kolonieen befinden sich grauweiße, matte, mit kleinen Wassertröpfchen besetzte Häutchen, um die sich schwach fadenziehende, schleimig aussehende, glänzende, stark erhabene, wässerig breiige, manchmal durchscheinende, grauweiße Auflagerungen bilden. Einzelne Kolonieen zeigen deutliche, radiäre, erhabene Lamellen, zwischen diesen sind die Kolonieen durchsichtig, dünn, hautartig und etwas bläulich schimmernd.

Bouillonkultur bei 32—34°.

Eine grauweiße, mattglänzende, bräunliche, grobgefaltete und gerunzelte, etwas zähe, ab und zu etwas fadenziehende Haut bedeckt die nun mehr stark braun gefärbte Bouillon nach 21 Tagen.

Milchkultur.

Bei höherer Temperatur, etwa 30—34°, wird das Kasein schon in kurzer Zeit koaguliert und dann allmählich wieder peptonisiert, bei gewöhnlicher Temperatur tritt erst nach langer Zeit und nur am Boden der Kultur eine Kaseinfällung ein. Das Kasein resp. einzelne Partikel erscheinen mit der Zeit schön rosarot gefärbt, ebenso wie die auf der Flüssigkeitsoberfläche schwimmenden Zooglöen. Nach einer Woche ist beinahe alles Kasein bis auf einen kleinen Teil am Boden gelöst, welcher Teil selbst nach halbjähriger Beobachtung keine Verminderung mehr erfährt. Die Reaktion ist und bleibt immer stark alkalisch.

Kartoffelkultur. 24 Stunden bei 33—35°.

Sehr breite, zierlich gefaltete — an einzelnen Stellen wässerig breiige, schleimig aussehende, schwach fadenziehende und schön rosa gefärbte — häutchenartige, sehr charakteristisch aussehende, flach ausgebreitete Belagstreifen überziehen die Kartoffelscheiben; mit der Lupe betrachtet, ähnelt diese zierliche Faltung einer Flechte. Ein deutlicher intensiver Geruch nach schwarzen Johannisbeeren erfüllt die mit den Kartoffelscheiben beschickten Petri-Schalen, welcher Geruch überhaupt sämtlichen Abarten des Kartoffelbacillus zukommt nach meinen gemachten Beobachtungen.

Dieses so charakteristische Wachstum des Bacillus mesentericus ruber in Kartoffelkulturen ist ein sicheres Diagnostikum für diese Bakterie und kann — wenn Milchkultur und Begeißelung mit angeführter Beschreibung stimmen — nie zu einer unsicheren Diagnose Veranlassung geben.

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

# Aromabildende Bakterien in Milch.

Von J. van der Leck, Rotterdam.

(Schluß.)

Die erste Arbeit von Julius Henrici[1]) ist schon von 1894. Dieser Untersucher beschränkte sich darauf, daß er zahlreiche Käsesorten sammelte. Er schnitt diese Käse mit einem sterilen Messer durch, nahm ein wenig Käse aus dem Innern, zerrieb diesen mit Wasser in einem sterilen Mörser und analysierte durch das Anlegen von Streukulturen auf geeignetem Nährboden die Bakterienarten. Er fand so die Bakterienarten, welche in dem kleinen Partikelchen Käse vorhanden waren. Die Kolonieen untersuchte er systematisch, aber nicht gründlich genug. Mehrere Arten konnte er mit schon durch andere beschriebenen Bakterien identifizieren, während er den ungefähr 50 Arten, welche noch übrig blieben, neue Namen gab. Unter diesen Bakterien kommen mehrere vor, welche den Namen Odorus und Odoratus führen. Dieses Epitheton ist ihnen gegeben, da sie ein eigenartiges Aroma in Milch produzierten, welches dem vom Bacillus aromaticus verursachten Aroma gleich ist. Diese Bakterien, wozu sowohl Kokken als Stäbchen gerechnet werden müssen, gehören also zur Gruppe der aromabildenden Bakterien. So findet man auf p. 30 unter No. 6 den Bacillus odorus, isoliert aus Rahmkäse No. 1. Seiner Beschreibung nach steht der Bacillus odorus dem Bacillus aromaticus sehr nahe. Am Ende dieses Abschnittes werden die Eigenschaften des Bacillus odorus in einer Tabelle aufgenommen.

Beim Durchlesen seiner Abhandlung bekommt man bald die Ueberzeugung, daß seine Arbeit nicht die wahre Einsicht in die Bakterienflora des Käses gibt. Er nimmt z. B. seine Käsemuster immer aus dem Zentrum. Man bekommt so ein Bild von der Bakterienflora auf einer bestimmten Stelle, während doch die Verteilung der Bakterien im Käse sehr unregelmäßig ist. Weiter analysiert er nur alten, reifen Käse. Die Bakterien, welche dann wachsen, können von keinem Interesse für die Käsereifung gewesen sein, indem andere Arten, die eine wichtige Umsetzung ausgeübt haben, schon lange verschwunden sind und nicht mehr oder nur durch ihre Enzyme weiter einwirken.

Für mich ist es sehr wichtig, daß Henrici den Bacillus aromaticus (odorus) in altem reifen Weichkäse gefunden hat, was mir bis jetzt nicht gelungen ist. Bei den Lebensbedingungen von Bacillus aromaticus ist seine Gegenwart in Weichkäse sehr gut möglich, und würde ich es sehr unwahrscheinlich finden, wenn er aus Hartkäse isoliert würde.

Grimm[2]) isolierte im Jahre 1902 eine aromabildende Bakterie, welcher er den Namen Bacillus aromaticus lactis gab. Nur zweimal und überdies zufällig fand er diese Bakterie in Handelsmilch. Er schreibt selbst davon:

---

1) Henrici, Julius, Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Migula, Technische Hochschule Karlsruhe. 1894.)
2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. p. 584.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Bei meinen zahlreichen bakteriologischen Analysen der Milch und ihrer Produkte fand ich im Laufe der letzten Jahre in Milch verschiedener Herkunft einen Bacillus, der in auffallender Weise die Fähigkeit besitzt, sterilisierter Milch ein ausgesprochen fruchtätherartiges Aroma zu verleihen.“

Das ist alles, was Grimm von der Herkunft seiner Bakterie weiß. Auch die Eigenschaften dieses Bacillus wird man am Ende in der Tabelle finden.

Mit diesen beiden Arbeiten von Grimm und Henrici ist die Literatur über diesen Gegenstand erschöpft und man würde vielleicht diese Milchbakterie für eine zufällige Infektion ansehen, die nur höchst selten in Milch vorkommt.

Bevor ich mit einer Untersuchung von den Eigenschaften des Bacillus anfangen konnte, mußte ich erst versuchen, eine Reinkultur von ihm zu bekommen. Es wäre ganz einfach gewesen, ihn aus gewöhnlicher Milch zu isolieren, für ein solches Experiment muß eine Bakterie jedoch in viel größerer Zahl gefunden werden. Ich war also genötigt, vorher eine geeignete Anhäufungsmethode für den Bacillus aromaticus zu suchen. Wenn man berücksichtigt, daß der Bacillus aromaticus nicht in Kuheuter gefunden wird, und dieses eine Infektion nach dem Melken ist, mußte er in ziemlich großer Zahl auf dem Boden vorkommen. Darum wurde der Anhäufungsversuch wie folgt eingerichtet.

In offene Erlenmeyer-Kolben und geschlossene Flaschen wurde ein wenig Erde getan und darauf Milch gegossen. Die Flaschen wurden ganz gefüllt, die Erlenmeyer-Kolben bis zu einer bestimmten Höhe, verschieden für jeden Erlenmeyer-Kolben, und alle diese Proben wurden bei Temperaturen von 15°, 23°, 30° und 37° C kultiviert. Im ganzen wurden 20 Proben in Flaschen und 20 in Erlenmeyer-Kolben bei diesen 4 Temperaturen genommen. Nur in wenigen kam das Aroma zur Entwickelung, und diese waren wie folgt über die 40 Proben verteilt: In den gut verschlossenen Flaschen wurde das Aroma bei keiner der 4 Temperaturen konstatiert und in den Erlenmeyer-Kolben nicht bei 30° und 37° C. 3 von den 4 Erlenmeyer-Kolben, kultiviert bei 23° C, verbreiteten den bekannten Duft und bei denjenigen von 15° nur einer. Da ich damals die engen Temperaturgrenzen, wo der Bacillus aromaticus noch wachsen kann, nicht kannte und an zufällige Umstände dachte, stellte ich die ganze Serie Versuche von neuem an. Wieder fand in keiner der Flaschen Aromabildung statt, so daß ich die Sicherheit bekommen hatte, daß die gesuchte Bakterie aërob war. Von den Proben der Erlenmeyer-Kolben gaben diejenigen, welche kultiviert waren, bei 30° und 37° C wieder kein Resultat, während die Erlenmeyer-Kolben von 23° C alle 5 und bei den von 15° C 2 das bekannte Aroma gebildet hatten.

Ich beschränkte weiter meine Versuche auf diese 2 Temperaturen von 15° und 23° C, wobei die Milchhöhe zwischen 1 und 5 cm wechselte. Die Resultate dieser Versuche habe ich der Kürze wegen in einer Tabelle zusammengefaßt, und wurden nach 24 Stunden bestimmt:

| Proben- | | 15° C | | | | | 23° C | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| zahl | Schichthöhe in Centimetern | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 10 | | 1 | — | — | — | — | 1 | 1 | — | 1 | — |
| 20 | | — | — | — | — | — | 2 | 2 | 1 | — | — |
| 10 | | — | 1 | — | — | — | 1 | — | 1 | — | — |
| 10 | | — | — | — | — | — | 1 | 1 | — | — | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daraus ersehen wir schon, daß die Temperatur von 15° C sich sehr schlecht für diese Proben eignet, und um mehr Gewißheit über die beste Höhe der Milchschicht, mit anderen Worten die Intensität der Aëration, zu bekommen, .wurden die Versuche bei 23° C fortgesetzt. Die Resultate sind:

| Schichthöhe in Centimetern | Probenzahl | Aroma | Proportion |
|---|---|---|---|
| 1 | 20 | 16 | 80 Proz. |
| 2 | 20 | 13 | 65 „ |
| 3 | 10 | 2 | 20 „ |
| 4 | 10 | 2 | 20 „ |
| 5 | 8 | 1 | 12½ „ |

Eine dünne Milchschicht ist also für die Aromabildung bei einer Temperatur von 20—23° C sehr geeignet.

In diesen Erlenmeyer-Kolben war der Bacillus aromaticus angehäuft, jedoch war das Wachstum von den anderen Bakterienarten so stark, daß eine Isolierung von Bacillus aromaticus mit großen Beschwerden verbunden war. Dieses reiche Bakterien- und Pilzwachstum war durch die hinzugefügte Erde verursacht, die ganz voll mit Bakterien war. Ich machte die Versuche weiter nur mit roher abgerahmter Marktmilch, ohne Infektionsmaterial, und trachtete, zu bestimmen, ob die Aromabacillen immer oder zufällig in Milch vorkommen.

Gewöhnliche Streukulturen stark verdünnter Milch (1 : 1000) über Molkengelatineplatten konnten hierin keine Sicherheit geben, da bei diesen Platten das Aroma ein einziges Mal konstatiert wurde, was jedoch sehr oft nicht der Fall war. In einer Serie von 100 Milchstreukulturen auf Molkengelatineplatten, welche in einem mir bekannten Laboratorium gemacht wurden, konnte ich nur 3mal die Aromabildung bei einer Platte konstatieren. Wir dürfen hieraus nicht schließen, daß der Bacillus aromaticus nur selten in Milch vorkommt, da diese Streukulturen sehr stark verdünnt sind (1 : 1000). Um von diesen Verdünnungen unabhängig zu werden, strich ich unverdünnte Milch über die Platten aus, so daß alle Kolonieen auf die Platten zu liegen kamen, und nahm nun das Aroma bei dieser Probe fast immer wahr. Es war jedoch fast unmöglich, unter den zahlreichen Bakterienkolonieen den Bacillus aromaticus auszusuchen. Ich hatte jetzt die Sicherheit bekommen, daß der Bacillus aromaticus immer, jedoch in geringer Zahl, in der Milch vorkommt.

Infolge dieser Erfahrungen kehrte ich wieder zu dem im Anfang beschriebenen Versuch zurück, um die Milch in dünnen Schichten mit Lab zu gerinnen und bei Zimmertemperatur zu kultivieren. Ich bemerkte jedoch, daß die Angabe Zimmertemperatur viel zu unbestimmt war. Versuche, bei 15° C und niedrigerer Temperatur gemacht, gaben kein Resultat, da die Fluoreszenten sich sehr stark vermehrten, so daß man auf diese Weise die Fluoreszenzgruppe anhäufen kann. Stellt man die Versuche über 23° C ein, so findet eine tüchtige Milchsäuregärung statt und alle anderen Bakterien werden durch die Milchsäuregruppe verdrängt. Ich arbeitete weiter nur bei einer Temperatur von 20—23° C und unter diesen Umständen versagte die Aromabildung kein einziges Mal. Die Aromabakterien kamen also aus der Milch oder aus dem für

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Gerinnung benutzten Lab. Diese letzte Annahme fiel schon sogleich weg, da das von mir benutzte Lab so stark präserviert war, das es nicht nur vollkommen steril, sondern 1 ccm dieses Labs im stande war, in 3 ccm Milch alle Bakterien in kurzer Zeit zu töten. Plattenkulturen dieser Milch oder dieses Labs ergaben immer ein negatives Resultat. Der Vollständigkeit wegen kann hier noch hinzugefügt werden, daß das Aroma nicht durch irgend ein chemisches Produkt, das entstehen könnte bei der Wirkung von Lab auf Milch, verursacht wird. Den Beleg dafür bekam man sofort, indem man die vorher beschriebene Gerinnungsprobe in einer Chloroformumgebung ausführte, wodurch alles Bakterienwachstum unmöglich wird. Dabei konstatierte ich das Aroma kein einziges Mal. In allen Fällen, worin ich die Anwesenheit von Aroma bemerkte, konnte ich zugleich ein sehr aktives Bakterienleben observieren.

Die Erklärung, warum unter 15° C die Fluoreszenten in den Vordergrund kommen, zwischen 20—23° C Bacillus aromaticus, und bei einer Temperatur über 23° C die letzten sich nicht mehr entwickeln können, muß man in der Konkurrenz zwischen diesen Bakterienarten und den Milchsäurebakterien suchen. Die letzteren entwickeln sich unter 15° C nicht oder sehr langsam, demzufolge kommen die Fluoreszenten, welche eines schwach alkalischen Mediums bedürfen und diese Temperatur sehr angenehm finden, in den Vordergrund, da sie unter diesen Umständen alle anderen Arten verdrängen. Macht man den Versuch jedoch über 23° C, so ist die Säurebildung durch die Milchsäurefermente so stark, daß nicht nur die Fluoreszenten, sondern auch Bacillus aromaticus, welcher eine kleine Menge Säure sehr gut vertragen kann, unmöglich in diesem stark angesäuerten Medium weiter leben können. Wird endlich die Probe zwischen 20—23° C ausgeführt, dann ist das Wachstum der Milchsäurefermente und die Säurebildung dadurch viel geringer, günstig für die Entwickelung von Bacillus aromaticus, aber doch zu stark, um das Wachstum von Fluoreszenten zu erlauben. Der meist günstige Säuregehalt für Bacillus aromaticus ist 1 ccm Normalsäure auf 100 ccm Kulturflüssigkeit.

Man kann sich weiter sehr leicht erklären, warum die Aromabakterien in geronnener Milch so viel besser wachsen als in gewöhnlicher Milch. Dieses wird auch wieder durch die Konkurrenz mit den Milchsäurefermenten verursacht, die letzteren verbreiten sich sehr leicht in flüssiger Milch, obschon sie keine Eigenbewegung haben. Dagegen hat man in geronnener Milch mit einem festen Boden zu tun, worin jede Kolonie sich isoliert entwickeln kann; überdies steht der Unbeweglichkeit der Milchsäurefermente die Eigenbewegung von Bac. aromaticus gegenüber, wodurch für den letzteren die Umstände in geronnener Milch bedeutend günstiger als in flüssiger Milch sind.

Die Kenntnis dieser Tatsachen war Veranlassung, die Probe bedeutend zu verbessern, so daß diese folgende Form annahm:

Die Milch wurde in einem Erlenmeyer-Kolben bei 30° C erhitzt und 0,01 Proz. Lab hinzugefügt. Man tut gut, dieses Lab vorher mit Wasser zu verdünnen. Man schüttelt tüchtig durch und gießt so viel von dem Inhalt des Erlenmeyer-Kolbens in eine Petri-Schale, daß die Höhe der Milchschicht 1 cm ist. Die Petri-Schale setzt man 20 Minuten in einen Thermostaten bei 30° C. In diesem Zeitverlauf gerinnt die Milch zu einem zusammenhängenden Klumpen und wird nun in einem Thermostaten bei 23° C 24 Stunden kultiviert. Man nimmt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dann eine Oese der geronnenen Milch, verteilt diese in 25 ccm steriles Wasser und bringt wieder eine Oese daraus auf eine Molkengelatineplatte.

Wenn die Quantität Lab richtig genommen ist, preßt die geronnene Milch in diesen 24 Stunden absolut keine Molken aus, was die Probe viel schöner macht. Uebrigens tut eine nicht zu große Quantität Molke dem Verlauf des Versuchs keinen Schaden, da das ausgefällte Kasein Bacillus aromaticus in solcher Menge enthält, daß der ausgepreßte Molke ohne weiteres abgegossen werden kann. Wird die Quantität ausgepreßter Molken zu groß, so verliert die Milch die Vorteile, welche ein fester Untersuchungsboden in diesem Fall darbietet und der Versuch mißlingt. Die Quantität ausgeschiedener Molken ist symmetrisch mit der Labmenge und Temperatur, wobei kultiviert wird. Wirkt man bei 23° C, so muß man 0,01 Proz. Lab gebrauchen, bei 20° C jedoch kann man die doppelte Quantität ohne Bedenken hinzufügen. Man gebraucht für diese Proben nur abgerahmte Milch, da die Fettschicht, welche bei einer solchen Gerinnung aufsteigen wird, den Versuch mißlingen läßt. Es ist notwendig, die Aussaat des Materials der geronnenen Milchplatte nach höchstens 24 Stunden vorzunehmen, da nach diesem Zeitverlauf die Milchsäuregärung und das Wachstum von Oidium lactis schnelle Fortschritte macht, wodurch Bacillus aromaticus, ehe er noch verschwindet, derartig in die Minderzahl kommt, daß gewöhnliche Aussaat der mit Wasser verdünnten Milch kein Resultat mehr liefert.

Die auf diese Weise geimpften Molkengelatineplatten werden auch bei 23° C kultiviert und verbreiten, sobald die Kolonieen zur Entwickelung kommem, das spezifische, dem Bac. aromaticus ähnliche Aroma. Da ich damals die Eigenschaften von Bacillus aromaticus nicht kannte, entschloß ich mich, alle auf der Kulturplatte gewachsenen Bakterienarten auf ihr aromabildendes Vermögen zu untersuchen. Unter je 400 aufgeangenen Kolonieen waren die folgenden bekannten Arten:

| | |
|---|---|
| Milchsäurefermente | 100 |
| Coli und Aërogenes | 110 |
| Fluoreszenten | 10 |
| Oidium lactis | 2 |
| | 222 |

Außer diesen bekannten Arten wurden die übrigen, ungefähr die Hälfte, nach ihrem Aussehen in eine gewisse Zahl Arten, um die Uebersicht zu erleichtern, eingeteilt; der Unterschied war oft so gering, daß diese sehr gut zu einer und derselben Gruppe gehören könnten. Von jeder Gruppe wurden einige Kolonieen auf Molkengelatine in Petri-Schalen, welche geöffnet werden konnten, um den Geruch zu beurteilen, abgestrichen. Diese Kulturplatten wurden 24 Stunden bei 23° C kultiviert, einige verbreiteten den folgenden Tag das bekannte Aroma und auf diese Weise kam ich zu dem Schluß, daß 100 Kolonieen der ursprünglichen Molkengelatineplatten zu den Aromabildnern gehören mußten. Zwecks Vervollständigung meiner Untersuchung führte ich dieselben Versuche mit den bekannten Kolonieen aus, natürlich ohne Resultat.

Die so gefundenen aromabildenden Bakterien mußte ich in zwei Gruppen einteilen. Die erste und zahlreichste bildete schwach gelb gefärbte schleimige Kolonieen, welche die Gelatine schwach auflösten. Diese Art wurde mit dem Namen Bacillus aromaticus bezeichnet. Die Stäbchen waren immer zu zweien vereint und zeigten eine starke

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rotierende Eigenbewegung. Länge 3,5—2,5 $\mu$, Breite 0,8 $\mu$. Die andere Gruppe war gebildet durch gelbweiße, nicht schmelzende Kolonieen. Morphologisch zeigten sie mit dem Bacillus aromaticus nur einen Unterschied durch ihre Unbeweglichkeit. Diese Bakterie wurde infolge ihres Vermögens, Milch zu säuern, mit dem Namen Bacillus acido aromaticus belegt. Beide Aromaticus-Arten wurden nun auf ihr Verhalten der Milch gegenüber untersucht.

Zwei Kolben wurden mit einer 1 cm hohen sterilisierten Milchschicht versehen, mit beiden Arten geimpft und bei 23° C kultiviert. Schon nach 24 Stunden hatten beide ein intensives Aroma gebildet, worin ich jedoch einen geringen Unterschied konstatieren konnte. Der Geruch von dem Kolben mit Bacillus aromaticus war der des reines Aromas, der schon von Anfang an die Aufmerksamkeit erregt hatte; der Geruch des Kolbens mit Bacillus acido-aromaticus war ein wenig schärfer, wahrscheinlich durch Vermischung mit einem andern Stoff, vielleicht Buttersäure. Aeußerlich war keine Umsetzung in der Milch zu bemerken, indem unter dem Mikroskop der Bacillus aromaticus beweglich und der Bacillus acido-aromaticus unbeweglich war.

Nach 4 Tagen waren beide Kolben geronnen. Da der Kolben mit Bacillus aromaticus nur 1 ccm Alkali, der Kolben mit Bacillus acido-aromaticus jedoch 5 ccm Alkali (auf 100 ccm Milch) titrierte, war die Gerinnung verschieden. In dem ersten Kolben konnte die Gerinnung keinesfalls durch Säure, sondern nur durch Lab verursacht sein; in dem zweiten Kolben jedoch genügte die Säuerung, um die Milch zu gerinnen, obschon diese Wirkung sehr gut durch Labenzym unterstützt worden sein konnte. Dies untersuchte man auf den im ersten Abschnitt § 1 beschriebenen Milchagarplatten. Aus beiden Kolben nahm man ein Stückchen des koagulierten Kaseins und brachte es auf die Platten; die bei 40° C gebildeten Diffusionsfelder wurden nun mit verdünnter Sodalösung behandelt. Wie man erwartete, veränderte sich das Gerinnungsfeld des ersten Kolbens nicht im geringsten, das zweite Feld jedoch wurde fast ganz aufgelöst, so daß ich die von Bacillus acido-aromaticus verursachte Gerinnung ausschließlich der Säurebildung zuschreibe. Infolge dieser Säurebildung bekam dieser Bacillus auch den Namen acido-aromaticus. Der Kolben mit der letzteren titrierte den größten Säuregehalt (6 N) nach 7 Tagen. Bald darauf nahmen beide Kolben eine gelbbraune Farbe an und nach 4 Wochen konnte ich eine Auflösung des Kaseins bemerken; inzwischen war das bekannte Aroma verschwunden und durch einen spezifischen Käsegeruch ersetzt. Nach weiteren 2 Monaten wurden die Kulturen noch einmal untersucht, jedoch keine lebendigen Bakterien mehr angetroffen.

Die bis jetzt bestimmten Differenzen zwischen beiden Aromaticus-Arten sind wichtig genug, eine besondere Benennung zu rechtfertigen.

Später isolierte ich den Bacillus acido-aromaticus ziemlich leicht aus Milch, die im ersten Stadium der Milchsäuregärung war, selbst wenn die Säuerung in einer geschlossenen Flasche stattfand. Fertigen wir von einer solchen Flasche innerhalb 24 Stunden nach Einsetzung bei 23° C für die Säuregärung Oberflächenstreukulturen auf einer Molkengelatineplatte an, so fehlen die Aromaticus-Arten nie.

Man kann Bacillus acido-aromaticus ohne Beschwerde auf Molkengelatine, welche mit Kreide undurchsichtig gemacht ist, wiedererkennen. Hierauf zeichnet derselbe sich als eine gelbe, schwach auflösende

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonie aus. Fügt man der Platte keine Kreide hinzu, so bemerkt man die proteolytische Wirkung nicht, welche man der Säurebildung zuschreiben muß, welche der tryptischen Wirkung widerstrebt. Der Bacillus acido-aromaticus ist also viel säurefesteralsder Bacillus aromaticus.

Streut man beide Aromaticus-Arten in verdünnter Lösung über eine Milchagarplatte aus, so sieht man bald einen bedeutenden Unterschied. Der Bacillus aromaticus wächst flach und schnell über die ganze Platte und bildet dabei ein starkes Gerinnungsfeld. Sogar nach mehreren Tagen hat sich kein Lösungsfeld gebildet, wahrscheinlich durch die Säurebildung, obschon die Konzentration des Trypsins sehr gut zu gering sein kann. Der Bacillus acido-aromaticus wuchs mehr lokal und machte ein starkes Säuregerinnungsfeld, was auf die bekannte Weise mit Sodalösung angezeigt wird.

Eine große Schwierigkeit für die Isolation von Bacillus aromaticus ist seine große äußerliche Uebereinstimmung mit Bacillus coli communis und Bacillus aërobacter aërogenes. Das Aromamerkmal ist bei dergleichen Versuchen zu unbestimmt, indem man die Bakterien auch nicht sogleich einer Gärungsprobe unterwerfen kann.

Um diesen Schwierigkeiten zu entgehen, machte ich von den im ersten Abschnitt § 3 beschriebenen Versuchsmethoden mit Glukosiden und Tyrosin Gebrauch. Erstens eine Fleischbouillongelatineplatte mit $^1/_2$ Proz. Indikan, und strich die beiden Aromaticus-Arten und einige ähnliche Arten darauf ab.

Dieser Versuch gibt sogleich eine deutliche Trennung zwischen den Aërobacter-Gruppen und dem Bacillus aromaticus, indem Bacillus coli communis, Bacillus aërobacter aërogenes und Bacillus acido-aromaticus das Indikan spalten, Bacillus aromaticus es jedoch nicht spaltet.

Zweitens brachte ich dieselben Bakterienarten auf eine Fleischbouillongelatineplatte, die ein wenig Aeskulin und eine Spur Ferricitrat enthielt. Wieder war Bacillus aromaticus ohne Einwirkung, indem die Aërobacter-Arten und Bacillus acido-aromaticus die Spaltung wohl ausführten.

Da Bacillus aromaticus in Milch ein gelbes Pigment entwickelte, welches oft mit Tyrosinoxydation zusammengeht, brachte ich ihn auf eine Tyrosin enthaltende Wassergelatineplatte. In der Regel löst man das Tyrosin in Agaragar und nicht in Gelatine, da in letzterer die Diffusion nicht so gut ist. Man gebraucht nämlich für Gelatineplatten eine 12-proz. Lösung, für Agarplatten eine $1^1/_2$-proz. Lösung. Sobald nun die Tyrosinoxydation sehr langsam stattfindet, ist diese größere Diffusion sehr ungünstig, so wie bei Bacillus aromaticus. Beide Aromaticus-Arten färben die Gelatineplatte von rot bis braun, was die Aërobacter-Gruppe nicht tut. Diese ist also die einzige positive Reaktion auf Bacillus aromaticus.

Viertens eine mit Lackmus blau gemachte Molkengelatineplatte. Nach 1 Tage werden die Aërobacter-Arten und Bacillus acido-aromaticus durch ein klares rotes Feld ausgezeichnet. Erst nach 10 Tagen fängt auch Bacillus aromaticus an, ein rotes Feld zu bilden. Es ist für diesen Versuch unentbehrlich, einen Kulturgrund zu benutzen, der keine oder sehr wenig Glykose enthält, da Bacillus aromaticus aus Glykose wohl Säure bildet, so daß dann aller Unterschied mit der Aërobacter-Gruppe verloren geht.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fünftens wurde ein Versuch eingesetzt, um zu beurteilen, ob Bacillus aromaticus Nitrat zu Nitrit reduzieren kann, da die Aërobakter-Gruppe diese Eigenschaft wohl hat. Dazu bringt man in Fleischbouillongelatine $^1/_{20}$ Proz. $KNO_3$ und $^1/_5$ Proz. Amylum und legt auf diese Platte einen Haufen der zu untersuchenden Bakterienkultur. Nach 24 Stunden übergießt man die Platte mit einer KJ-Lösung, wobei, nachdem sich Nitrit gebildet hat, Jodium freigelegt wird, das dann das Amylun von der Platte blau färbt; da Nitrit sehr schnell diffundiert, muß man nach höchstens 24 Stunden auf die Platte reagieren.

Die aromabildenden Arten färben die Gelatine nicht blau, so daß wir darin noch ein Mittel haben, sie von der Aërobakter-Gruppe zu unterscheiden.

Die Resultate dieser fünf Versuche sind in folgender Tabelle zusammengefaßt, wobei in Betracht gezogen werdeu muß, daß kein Plattenversuch als gelungen gerechnet ist, falls eine der aufgebrachten Kulturen eine positive Reaktion gab.

| | B. aromaticus | B. acido aromaticus | B. coli communis | B. aërob. aërog. |
|---|---|---|---|---|
| Indikan | — | + | + | + |
| Aeskulin | — | + | + | + |
| Tyrosin | + | + | — | — |
| Lackmus | — | + | + | + |
| $KNO_3$ | — | — | + | + |

Da der Unterschied zwischen Bacillus aromaticus und den obengenannten Bakterienarten sehr gering ist und wir bei unseren Kulturen nur hauptsächlich eine Verwechslung mit dieser Gruppe zu fürchten haben, so ist mit Hilfe dieser Tabelle alle Verwirrung ausgeschlossen.

Unter Anwendung dieser Reaktionen ist Bacillus aromaticus, womit ich mich ausschließlich beschäftigen werde, sehr leicht direkt aus koagulierter Milch zu isolieren. Man streicht die Milch unverdünnt über eine Aeskulinferricitratplatte aus und nimmt nun von einer Stelle, wo das Aeskulin nur wenig gespalten worden ist und viel gelbweiße Kolonieen liegen, ein wenig Bakterienmasse und bringt sie auf eine neue Aeskulinferricitratplatte. Auf dieser Platte sind die nichtäskulinspaltenden Kolonieen hauptsächlich Bacillus aromaticus.

Durch das fortwährende Arbeiten mit Bacillus aromaticus lernte ich ihre Kolonieen so gut wiedererkennen, daß ich die Aromaticus-Kolonieen sehr leicht von Gelatineplatten, worauf gewöhnliche Milch ausgestreut war, aussuchen konnte, im Falle ihre Gegenwart durch das charakteristische Aroma verraten wurde. Diese Weise, um diese Bakterien zu isolieren, ist dieselbe, womit Grimm seinen Bacillus aromaticus lactis aus der Milch bekommt. Die bis jetzt beschriebenen Methoden zur Isolierung von Bacillus aromaticus konnten nichts weniger als ein Rezept zur Isolation dieser Bakterie ohne die Möglichkeit falscher Resultate betrachtet werden.

Ich versuchte, eine bessere Anhäufung durch wiederholte Labgerinnung der Milch zu erhalten. Gewöhnliche Milch wurde nach der Vorschrift geronnen und bei 23° C kultiviert, nach 24 Stunden brachte ich einige Oesen des Kaseins in bei 60° C pasteurisierte Milch, ließ gerinnen und kultivierte wieder nach dem bekannten Rezept. Diese Ueberimpfungen wiederholte ich noch einige Tage, konnte jedoch keine weitere Zunahme von Bacillus aromaticus beobachten. Sogar der Gehalt an Bacillus coli communis nahm um ein geringes zu.

Für eine gute Anhäufungsmethode mußte ich mit den Lebens- und

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

insbesondere mit den Nahrungsbedingungen durchaus bekannt sein, wobei ich mich der auxanographischen Methode[1]) bediente. Man bringt die zu untersuchende Bakterienart in eine Gelatineplatte, welche nur die unentbehrlichen anorganischen Salze enthält. Auf diese Platte bringt man Lösungen einiger Kohlenstoff- und Stickstoffbrunnen, welche man auf ihre Nahrungskraft untersuchen will. Sobald diese in die Platte hineindiffundiert sind, wird an der Stelle, wo sich für die Bakterie geeignete Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen begegnen, Bakterienwachstum stattfinden; das ist der allgemeinste Fall.

Man kann nun auch in eine solche Platte sogleich eine bestimmte Kohlenstoff- oder Stickstoffverbindung bringen und einige zu untersuchende Stickstoff- oder Kohlenstoffverbindungen darauf; so wird unter den Stellen, wo sich für das Bakterienwachstum geeignete Lösungen befinden, das Feld undurchscheinend werden. Solch ein Feld muß man jedoch immer bakteriologisch untersuchen, da öfters zwei Stoffe, welche ineinander diffundieren, unlösliche Verbindungen ausscheiden.

Es wurden die folgenden Auxanogramme hergestellt:

1) eine Wassergelatine, worin Bacillus aromaticus, $^1/_4$ Proz. $NH_4Cl$, $^1/_{20}$ Proz. $K_2HPO_4$.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Glukose | + | Ca-Malat | + |
| Saccharose | — | Ca-Citrat | — |
| Laktose | — | Ca-Tartrat | — |

Von diesen drei Zuckerlösungen eignete sich nur Glukose für die Kohlenstoffnahrung und von den organischen Salzen Ca-Malat.

Für die Bestimmung der besten Stickstoffnahrung machte ich eine Glukoseplatte.

2) Wassergelatine, worin Bac. aromaticus, $^1/_{20}$ Proz. $K_2HPO_4$, 1 Proz. Glukose:

| | | |
|---|---|---|
| Ureum | + | sehr stark |
| Asparagin | + | |
| $NH_4Cl$ | + | |
| Pepton | + | |
| $KNO_3$ | —? | sehr schwach oder nicht. |

Die Intentität des Wachstums war nach gegebener Reihenfolge, so daß Ureum das stärkste war. Chlorammonium und Pepton ergaben gleiches Wachstum, während dieses bei Ureum außerordentlich stark war. Da Bac. aromaticus einem sauren Medium den Vorzug gibt, wurde folgender Versuch angestellt:

3) Wassergelatine, worin Bac. aromaticus, $^1/_2$ Proz Asparagin, $^1/_{20}$ Proz. $KH_2PO_4$, also saures Phosphat.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Glukose | + | Ca-Malat | + |
| Laktose | — | Ca-Citrat | — |
| Saccharose | — | Ca-Oxalat | — |
| Mannose | — | Ca-Acetat | — |
| Lävulose | — | | |

Dieser Versuch ergab also dieselben Resultate wie diejenigen mit $NH_4Cl$. Mit dem Gebrauch von Asparagin ist jedoch eine große Beschwerde verbunden, es ist nämlich zugleich Kohlenstoff als Stickstoffnahrung, so daß in der ganzen Platte die Bakterien langsam wachsen. Dieses Wachstum ist glücklicherweise sehr schwach.

1) M. W. Beijerinck, Ueber Nachweis und Verbreitung der Glukose des Enzyms der Maltase. (Centralbl. für Bakteriol. 1892. p. 221.) Die auxanographische Methode. (Archives Néerlandaises. 1887.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Wassergelatine, worin Bac. aromaticus, 1/4 Proz. Ureum, 1/20 Proz. $KH_2PO_4$.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Glukose | + | Ca-Malat | + | | |
| Laktose | — | Ca-Oxalat | — | Na-Oxalat | — |
| Saccharose | — | Ca-Propionat | + | | |
| Mannose | — | Ca-Laktat | — | Na-Laktat | — |
| Mannit | — | Ca-Succinat | + | | |
| Lävulose | — | Ca-Tartrat | — | Na-Tartrat | — |
| Galaktose | — | Ca-Acetat | — | Na-Acetrat | — |
| Maltose | — | Ca-Citrat | — | Na-Citrat | — |

5) Wassergelatine, worin Bac. aromaticus, 1/4 Proz. Ureum, 1/20 Proz. $K_2HPO_4$.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Glukose | + | Ca-Malat | + | | |
| Laktose | — | Ca-Oxalat | — | Na-Oxalat | — |
| Saccharose | — | Ca-Propionat | —? | Na-Propionat | + |
| Mannose | — | Ca-Laktat | — | Na-Lactat | — |
| Mannit | — | Ca-Succinat | + | | |
| Lävulose | — | Ca-Tartrat | — | Na-Tartrat | — |
| Galaktose | — | Ca-Acetat | — | Na-Acetat | — |
| Maltose | — | Ca-Citrat | — | Na-Citrat | — |

Sehr merkwürdig in diesen auxanographischen Versuchen ist der deutliche Unterschied zwischen Glukose einerseits, Mannose und Lävulose andererseits.

Man kann aus diesen Proben folgende Schlüsse ziehen:

Von den untersuchten Zuckerarten ist nur Glukose als Kohlenstoffnahrung für Bac. aromaticus brauchbar, indem von den anorganischen Salzen Malat, Propionat und Succinat Wachstum geben, Oxalat, Laktat, Tartrat, Acetat und Citrat dagegen das nicht tun. Insbesondere ist es überraschend, daß Succinat sich hierin unterscheidet von Laktat und Tartrat. Als Stickstoffnahrung kommen Ureum, Asparagin, Pepton und $NH_4Cl$ wohl, $KNO_3$ jedoch nicht in Betracht.

Da Proben in Kolben viel mehr Beweismittel sind, wurden diese Plattenproben noch einmal in Kolben getan. Die folgenden Kulturmischungen wurden untersucht und mit Bac. aromaticus geimpft.

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Wasser, | 2 | Proz. | Glukose, | 1/4 | Proz. | Ureum, | 1/20 | Proz. | $K_2HPO_4$ | + | 3 |
| 2 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | „ | 1/20 | „ | $KH_2PO_4$ | + | 2 |
| 3 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | Pepton | 1/20 | „ | $K_2HPO_4$ | + | 5 |
| 4 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | „ | 1/20 | „ | $KH_2PO_4$ | + | 4½ |
| 5 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | $NH_4Cl$ | 1/20 | „ | $K_2HPO_4$ | + | 3 |
| 6 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | „ | 1/20 | „ | $KH_2PO_4$ | + | 2½ |
| 7 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | Asparagin | 1/20 | „ | $K_2HPO_4$ | + | 4½ |
| 8 | „ | 2 | „ | „ | 1/4 | „ | „ | 1/20 | „ | $KH_2PO_4$ | + | 4 |
| 9 | „ | 2 | „ | — | 1/2 | „ | „ | 1/20 | „ | $K_2HPO_4$ | + | 10 |
| 10 | „ | 2 | „ | — | 1/2 | „ | „ | 1/20 | „ | $KH_2PO_4$ | + | 9 |

Diese acht Proben mit Glukose als Zucker gaben alle positives Resultat. Die Ziffern der letzten Reihe dienen dazu, den Unterschied in der Schnelligkeit des Wachstums anzugeben. Sie gibt die Tageszahl an, um eine bestimmte Trübung zu bekommen. Wie man sieht, gibt Bac. aromaticus einem sauren Medium bei weitem den Vorzug.

Eine zweite Serie Proben wurde mit den organischen Salzen angestellt, wobei die letzte Zahlenreihe wieder dieselbe Bestimmung wie in voriger Tabelle hat.

Einige Proben mit Salzen, welche ein negatives Resultat gegeben hatten, wurden hier auch genommen und die Resultate dieser Versuche stimmen absolut mit den Resultaten der auxanographischen Methode überein.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Wasser, | $^1/_4$ | Proz. | Ca-Malat, | $^1/_4$ | Proz. | Ureum, | $^1/_{20}$ | Proz. | $KH_2PO_4$ | + 2 |
| 2 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Asparagin, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 2 |
| 3 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Pepton, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + $2^1/_2$ |
| 4 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | $NH_4Cl$, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 4 |
| 5 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Propionat, | $^1/_4$ | „ | Ureum, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 3 |
| 6 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Asparagin, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 3 |
| 7 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Pepton, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 4 |
| 8 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | $NH_4Cl$, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 6 |
| 9 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Succinat, | $^1/_4$ | „ | Ureum, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + $2^1/_2$ |
| 10 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Asparagin, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 3 |
| 11 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Pepton, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + $3^1/_2$ |
| 12 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | $NH_4Cl$, | $^1/_{20}$ | „ | „ | + 5 |
| 13 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Tartrat, | $^1/_4$ | „ | Ureum, | $^1/_{20}$ | „ | „ | — — |
| 14 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Laktat, | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_{20}$ | „ | „ | — — |
| 15 | „ | $^1/_2$ | „ | Laktose, | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_{20}$ | „ | „ | — — |
| 16 | „ | $^1/_2$ | „ | Maltose, | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_{20}$ | „ | „ | — — |
| 17 | „ | $^1/_2$ | „ | Glukose, | $^1/_4$ | „ | $KNO_3$, | $^1/_{20}$ | „ | „ | — — |

Die besten Kulturflüssigkeiten sind:

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Wasser, | 2 | Proz. | Glukose, | $^1/_4$ | Proz. | Ureum, | $^1/_{20}$ | Proz. | $KH_2PO_4$ |
| 2 | „ | 2 | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Asparagin, | $^1/_{20}$ | „ | „ |
| 3 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Malat, | $^1/_4$ | „ | Ureum, | $^1/_{20}$ | „ | „ |
| 4 | „ | $^1/_4$ | „ | „ | $^1/_4$ | „ | Asparagin, | $^1/_{20}$ | „ | „ |
| 5 | „ | $^1/_4$ | „ | Ca-Succinat, | $^1/_4$ | „ | Ureum, | $^1/_{20}$ | „ | „ |

In diesen fünf Kulturflüssigkeiten waren 1 und 3 den andern überlegen und damit wurden nun die Anhäufungsversuche unternommen.

Flüssigkeit A. Wasser, $^1/_4$ Proz. Ureum, 2 Proz. Glukose, $^1/_{20}$ Proz. $KH_2PO_4$
„ B. „ $^1/_4$ „ „ $^1/_4$ „ Ca-Malat, $^1/_{20}$ „ „

Als Ausgangspunkt wurde wieder die Gerinnungsprobe genommen, da darin eine genügende Zahl Bac. aromaticus war.

In zwei Kolben wurde eine 1 cm hohe Schicht von A und B getan, mit geronnener Milch geimpft und bei 23° C kultiviert. Nach 24 Stunden hatte sich auf B eine dicke Bakterienhaut entwickelt, die hauptsächlich aus Bac. aromaticus gebildet war. Eine Streukultur auf einer Aeskulinfleischgelatineplatte ergab, daß $^9/_{10}$ der sich entwickelnden Kolonieen Bac. aromaticus waren, der Rest war Bac. fluorescens liquefaciens. Die letzteren entwickelten sich in dem Kulturkolben nach dem ersten Tage so stark, daß sie innerhalb 3 Tagen Bac. aromaticus absolut verdrängt hatten. Der Kolben mit Flüssigkeit enthielt nach 24 Stunden auch Bac. aromaticus, jedoch nur in ziemlich geringer Zahl (30 Proz.). Hauptsächlich waren hier Aërobacter-Arten zur Entwickelung gekommen; die Flüssigkeit A wurde denn auch weiter nicht benutzt.

Einige neue Proben, mit Flüssigkeit B genommen, gaben immer dasselbe Resultat: starkes Wachstum von Bac. aromaticus nach einem Tage, danach schnelle Zunahme der Fluoreszenten, wobei die Flüssigkeit alkalisch wurde.

Der Bac. aromaticus mußte also aus dem Ureum Alkali entwickeln. Eine Reinkultur wurde in Flüssigkeit B geimpft und nach 7 Tagen, um die Ureumspaltung zu beurteilen, titriert. Für die Neutralisation waren 3 ccm Normalsäure auf 100 ccm Flüssigkeit nötig. Der Bac. aromaticus spaltet also wirklich das Ureum und dadurch erklärt sich die Fluoreszentenzunahme. Ursprünglich entwickelt sich der Bac. aromaticus sehr schnell in dem sauren Medium ($KH_2PO_4$), fängt aber sogleich an, Ureum zu spalten, wodurch die Flüssigkeit alkalisch wird und so die Fluoreszenten sich schnell vermehren können.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Flüssigkeit B wurde jetzt noch 1 ccm Normalmilchsäure hinzugefügt. Nach 24 Stunden war der Kolben mit einer irisierenden Haut bedeckt, und als die Flüssigkeit nach 3 Tagen über eine Aeskulinplatte ausgestreut wurde, fand man, daß es eine Reinkultur von Bacillus aromaticus war. Die vollständige Anhäufungsmethode ist nun, wie folgt:

Man erhitzt abgerahmte Milch bei 30° C, fügt 0,01 Proz. Lab hinzu, gießt die Milch in eine Petri-Schale aus, Milchschichthöhe 1 ccm, und setzt sie während 20 Minuten in einen Thermostaten von 30° C. Die Platte wird nun während 24 Stunden bei 23° C kultiviert. Nach Verlauf dieser dieser Zeit bringt man eine Oese der geronnenen Milch in einen Kolben, worin eine 1 ccm hohe Schicht einer Kulturflüssigkeit, enthaltend Wasser mit $^1/_4$ Proz. Ca-Malat, $^1/_4$ Proz. Ureum, $^1/_{20}$ Proz. $KH_2PO_4$, 1 ccm Normalmilchsäure, sich befindet.

Man kultiviert wieder bei 23° C, nimmt nach einigen Tagen ein Stückchen der irisierenden Haut, verteilt diese gut in sterilem Wasser und macht eine Oberflächenstreukultur auf Molkengelatine. Fast ohne Ausnahme sind alle Kolonieen von Bacillus aromaticus.

Hier folgt eine kurze Uebersicht seiner Eigenschaften.

Allgemeines: Stäbchen etwa 4mal so lang als breit (Breite 0,8 $\mu$, Länge 3,5—2,5 $\mu$), immer zu zweien. Größenvariationen beim Wachstum auf verschiedenen Nährsubstraten unbedeutend. Lebhaft rotierende Eigenbewegung durch endständige Geißeln. Färbbarkeit ziemlich leicht mit allen Anilinfarben. Verhalten zum Sauerstoff aërob.

Auf Gelatineplatten sind die Kolonieen rundlich, schleimig, gelblichweiß, bis zu 2 cm im Durchmesser, rasch wachsend, die Gelatine schwach verflüssigend. In Fleischpeptonbouillon nach 24 Stundon reichlicher Bodensatz, wenig Trübung, in süßer Würze dünne Hautbildung. In Hefewasser mit 5 Proz. Glukose Bodensatz mit wenig oder keinem Aroma.

Stichkultur in Fleischpeptonbouillongelatine schleimige Entwickelung an der Oberfläche, unter welcher sich ein Verflüssigungssack bildet. Die Gelatine ist nach 5 Tagen vollständig verflüssigt, die Kultur sinkt langsam zu Boden und bildet ein dickes, schleimiges, gelblich-weißes Sediment.

Auf Molkenagar schleimiger, weißer Belag.

Kartoffelkultur: Dicker, schmutzig-gelber, schleimiger Belag, im Zentrum braun gefärbt.

Die physiologischen Eigenschaften des Bacillus aromaticus sind schon in der Abhandlung selbst beschrieben.

## Schluß.

Aus den Eigenschaften von Bacillus aromaticus glaubte ich schließen zu können, daß dieser eine wichtige Rolle bei der Reifung von Weichkäse spielen müßte. Die Versuche, welche ich hierüber schon angestellt habe und noch anstelle, haben sehr wichtige Resultate ergeben.

Da dieselben noch nicht beendigt sind und einer ganz besonderen Untersuchung bedürfen, werde ich sie hier nicht besprechen, sondern später in einem Aufsatz behandeln. Diese Arbeit würde sonst zu groß werden.

Die hierin beschriebenen Untersuchungen wurden größtenteils im mikrobiologischen Laboratorium in Delft unter Führung von Professor Beijerinck ausgeführt, dem ich meinen herzlichen Dank ausspreche für die fortwährende Hilfe, welche mir von ihm zu teil geworden ist.

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| Bacillus aromaticus | Bacillus aromaticus lactis | Bacillus odorus |
|---|---|---|
| Fundort: Milch. | Fundort: Milch. | Fundort: Rahmkäse No. 1. |
| Beweglichkeit u. Größenverhältnisse: Lebhaft rotierende Eigenbewegung. Länge 3,5—2,5 μ, Breite 0,8 μ, zu zweien vereinigt | Beweglichkeit u. Größenverhältnisse: Lebhafte Eigenbewegung. Länge 3,5 μ, Breite 0,8 μ, oft zu zweien vereinigt | Beweglichkeit u. Größenverhältnisse: Lebhaft rotierend bewegliche Stäbchen, einzeln oder zu zweien vereinigt. Die Breite eines Stäbch. beträgt 0,6 μ, die Länge etwa d. Doppelte |
| Gelatineplattenkultur: Die oberflächlichen Kolonieen sind schon nach 24 Stunden sichtbar und bilden runde, schleimige, gelblich-weiße Auflagerungen. Die Kultur entwickelt einen eigentümlichen Geruch | Gelatineplattenkultur: Tiefliegende Kolonieen linsenförmig, scharf abgegrenzt, sehr langsam wachsend, höchstens 1 mm Durchmesser erreichend. Oberflächliche Kolonieen rundlich, schleimig tropfenartig, schwach gelblich, bis zu 5 mm Durchmesser, rasch wachsend. Riesenkolonieen schmutzig-gelb, schleimig, in der Mitte dunkler, konzentrische Kreise bildend, an der Peripherie gekerbt | Gelatineplattenkultur: Die angeschlossenen Kolonieen sind schon nach 24 Stunden sichtbar, die oberflächlichen erscheinen bald danach und bilden runde, schleimige, glänzende, gelblich-weiße Auflagerungen. Die am Boden befindlichen Kolonieen dehnen sich zu breiten, dünnen, bläulich durchscheinenden Scheiben aus. Die Kultur entwickelt einen eigentümlichen, an Käse erinnernden Geruch |
| Gelatinestichkultur: Auf der Oberfläche entsteht ein schleimiger, gelbweißer Belag, unter welchem sich ein Verflüssigungssack bildet. Die Gelatine wird vollständig verflüssigt und die Kultur setzt ein schleimiges, schmutzig-weiß. Sediment ab | Gelatinestichkultur: Stichkultur reichlich, schleimige Entwickelung an der Oberfläche. Perlenbildung längs des Impfstiches. Die ganz unten am Impfstich sich befindenden Kolonieen sind kaum sichtbar. Je näher, desto stärker entwickeln sich dieselben, an der Luftgrenze die ganze Oberfläche bedeckend. Gelatine nicht verflüssigend | Gelatinestichkultur: Auf der Oberfläche entsteht ein schmutzig gelbweißer Belag, unter welchem sich ein Verflüssigungssack bildet; im Stichkanal wächst ein ziemlich dicker, gleichmäßiger Streifen bis zum Grunde. Die Gelatine wird rasch vollständig verflüssigt und ist oben von einer gelben Haut bedeckt; in der klaren, dünnflüssigen Gelatine sind kleine gelbliche Bröckelchen suspendiert, die langsam zu Boden sinken u. sich zu einem dicken, gelben Sediment anhäufen |
| Agaragarstrichkultur: Längs des Striches schmutzig-weißer, schleimiger Belag, der sich über die ganze Oberfläche hinzieht | Agaragarstrichkultur: Weißer schleimiger Belag | Agaragarstrichkultur: Längs des Impfstriches entsteht ein feinkörniger, honiggelber Belag, der sich allmählich über die ganze Oberfläche hinzieht |
| Bouillonkultur: Die Bouillon trübt sich nur wenig und setzt ein schmutzig-weißes, schleimig-flockiges Sediment ab | Bouillonkultur: Nach 24 Stunden allgemeine starke Trübung, später reichlicher Bodensatz | Bouillonkultur: Die Bouillon trübt sich stark u. setzt ein reichl., schleimig-flockiges, schmutzig-weißes Sediment ab |
| Milchkultur: Die Milch gewinnt einen aromatischen, schwach säuerlichen Geruch. Nach mehreren Tagen Koagulation des Kaseins, schwache Säurebild. Nach 3 Wochen wurde die Milch bräunl. u. durchscheinender. | Milchkultur: Nach 24 Std. starkes angenehmes Aroma, schwache Säuerung des Substrates ohne Koagulation des Kaseins. Nach Verlauf von 2 Wochen wurde die Milch bräunlich, nach weiteren 2–3 Wochen wurde das Kasein in ein käseartiges übergeht. | — <br> koaguliert, wobei das Aroma |
| Temperaturoptimum 23° C | | Temperaturoptimum 23° C |

| Bacillus aromaticus | Bacillus aromaticus lactis | Bacillus odorus |
|---|---|---|
| **Fundort**: Milch. | **Fundort**: Mich. | **Fundort**: Rahmkäse No. 1. |
| **Sauerstoffbedürfnis**: Wächst besser bei Luftzutritt | **Sauerstoffbedürfnis**: Wächst aërob | **Sauerstoffbedürfnis**: Wächst bei Luftzutritt und Luftabschluß |
| **Malzextrakt**: Haut an der Oberfläche, welche beim Schütteln in Fäden zerfällt, die zu Boden sinken | **Malzextrakt**: Starke wolkige Trübung, hauptsächlich in der oberen Schicht, dünne Hautbildung an der Oberfläche. Der ganze Nährboden bekommt mit der Zeit schleimige Konsistenz | — |
| **Molken**: Starke Hautbildung. Beim Schütteln sinken die einzelnen Stückchen zu Boden. Intensives Aroma | **Molken**: Stark fadenziehende Haut an der Oberfläche. Beim Schütteln zerfallen die Fäden in einzelne Stückchen von 2—4 mm Länge, die in der schleimigen Flüssigkeit hängen bleiben | — |
| **Hefewasser + 5 Proz. Glukose**: Leichtes Aroma, keine Alkoholbildung | **Hefewasser + 5 Proz. Glukose**: Schwache Alkoholbildung, leicht fruchtätherartiges Aroma | — |
| **Kartoffelkultur**: Dicker, schmutzig-gelber, schleimiger Belag, im Zentrum braun gefärbt | **Kartoffelkultur**: Dicker, schmutzig-brauner, schleimiger Belag, im Zentrum dunkler gefärbt, an der Peripherie mehr ins gelbliche übergehend | — |
| **Verhalten gegen Wärme**: Der Mikroorganismus entwickelt sich am besten und bildet nur Aroma bei einer Temperatur von 20—24° C. Ein Erhitzen der Kultur während einer Stunde auf 50° C nimmt derselben die Fähigkeit des Aromabildens. Niedrige Temperaturen üben keine schädliche Wirkung aus | **Verhalten gegen Wärme**: Er entwickelt sich am besten und bildet am meisten Aroma bei einer Temp. v. 22—24° C. Bei 35—37° C ist das Aroma wenig ausgeprägt. Ein Erhitzen der Kultur auf 82° C tötet die Aromabildner vollkommen. Erhitzt man eine entwickelte Kultur auf 70° C, so verliert dieselbe die Fähigkeit des Aromabildens. Ein Abkühlen bis auf —22° C übt keinen schädlichen Einfluß aus | — |

---

*Nachdruck verboten.*

# Deutsche Nitragin- und amerikanische Nitrokulturen als Impfmittel für Hülsenfrüchte.

[Mitteilung aus dem Institut für Bodenlehre und Pflanzenbau an der Kgl. landw. Akademie.]

Von Prof. Dr. **Th. Remy**, Bonn.

Mit 9 Figuren.

Reinkulturen von angepaßten Knöllchenbakterien auf Gelatine- oder Agarnährböden von passender Zusammensetzung haben als Impfmittel für die Hülsenfrüchte bereits vielfach Eingang gefunden. Mit Recht, denn nach

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Beobachtungen Hiltners, dessen verdienstvolle Arbeiten diese Frage in erster Linie der Klärung entgegengeführt haben und der schon seit Jahren unter dem Namen „Nitragin" Reinkulturen von Knöllchenbakterien als Hülsenfruchtimpfdünger an die Landwirte abgegeben hat, bewirkt die Impfung in einer verhältnismäßig bedeutenden Zahl von Fällen sehr erhebliche Ertragssteigerungen. Mit außergewöhnlicher Reklame, in der die Nitrokulturen u. a. als „größte Entdeckung des Jahrhunderts" bezeichnet werden, werden nun neuerdings von einer „National Nitroculture Co." in Westchester U. S. A. genannten Gesellschaft auch bei uns und in vielen anderen Ländern[1]) „Nitrokulturen" angeboten, die auch Knöllchenbakterien enthalten sollen, sich von den Nitraginkulturen aber dadurch unterscheiden, daß die Bakterien auf Baumwolle eingetrocknet zum Versande gelangen. Diesen trockenen Dauerkulturen werden die für die Herstellung einer Nährlösung erforderlichen Zutaten in zwei zierlichen Stanniolpäckchen beigefügt. Das eine enthält dem Anscheine nach in Form von Traubenzucker eine Kohlenstoff- und Energiequelle für die Bakterien, während in dem zweiten Päckchen als Nährsalz Kaliumammoniumphosphat enthalten ist. Die Anwendung der Nitrokulturen erfolgt in der Weise, daß man zunächst eine Nährlösung herstellt, in welche die Bakterien enthaltende Baumwolle hineingebracht wird. Man läßt dann das Ganze bei einer der Bakterienvermehrung günstigen Temperatur stehen. Nach Ablauf einiger Tage wird die Bakterienbrühe zur Samen- oder Bodenimpfung benutzt. Das Prinzip des Verfahrens ist nicht neu. Berichterstatter hatte bereits bei einem Besuche der Vereinigten Staaten im Jahre 1904 Gelegenheit, genau dasselbe Verfahren durch Vermittelung des Bureau of Plant Industry im Agricultural Department in Washington kennen zu lernen. Einige Versuche, in denen derartige Trockenkulturen vergleichend mit Impferde zu Sojabohnen angewandt waren, sah ich in verschiedenen Staaten der Union, ohne daß die Erfolge gerade sehr ermutigend gewesen wären. Mir wurde damals mitgeteilt, daß die Knöllchenbakterien zunächst in Bouillon vermehrt werden, die auf Watte geträufelt und vorsichtig im Vakuum eingetrocknet wird.

Zweifellos würden haltbare Trockenkulturen von Knöllchenbakterien als Hülsenfruchtimpfdünger einen Fortschritt gegenüber den erwähnten Nitraginkulturen auf Gelatine oder Agar bedeuten. Denn diese sind recht empfindlich gegen äußere Einwirkungen der verschiedensten Art, so daß ihre Wirksamkeit leicht Einbuße erleidet. Auch ihre Haltbarkeit und Versandfähigkeit ist nur eine beschränkte, während den Nitrokulturen große Handlichkeit, einjährige Haltbarkeit und unbeschränkte Versandfähigkeit bei erstaunlicher Wirksamkeit nachgerühmt werden. Es fragt sich, ob die Nitrokulturen alle diese Vorzüge wirklich in sich vereinigen. Die bei uns gemachten Erfahrungen sprechen entschieden gegen diese Annahme. Denn die, soweit bekannt sporenfreien, Knöllchenbakterien stehen in dem Rufe, durch große Empfindlichkeit gegen Austrocknung gekennzeichnet zu sein. Berichterstatter hat deshalb schon bald nach seiner Rückkehr aus Amerika im Spätherbst 1904 einige von Prof. Moore, dem Vorsteher des physiologischen Laboratoriums im U. S. Department of Agriculture, freundlichst zur Verfügung gestellte

---

1) So teilt Herr Dr. Wölffer-Dargun i. M. mit, daß auch in Singapore Bakterienreinkulturen verkauft werden, die mit den Nitrokulturen identisch zu sein scheinen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nitrokulturen auf das Vorhandensein von Knöllchenbakterien geprüft. Der Befund war ein negativer, lebende Knöllchenbakterien konnten in der trockenen Watte nicht nachgewiesen werden. Die im eigenen Laboratorium auf Gelatine geführten Pferdebohnenknöllchenbakterien wurden dann in Nährlösungen gebracht, diese nach der Vermehrung auf Watte und Gipsblöcke geträufelt und dort vorsichtig an der Luft eingetrocknet. Es gelang in keinem Falle, die Knöllchenbakterien beim Austrocknen lebend zu erhalten. Aehnliche Beobachtungen sind bei der Durchführung der nachfolgend beschriebenen Versuche von dem derzeitigen Institutsassistenten des Berichterstatters, Dr. Ph. Schneider, gemacht worden. In allen Fällen gingen auch bei diesen Versuchen die Knöllchenbakterien beim Eintrocknen zu Grunde. Diese vielen und älteren Erfahrungen ließen trotz aller von seiten der Nitroculture Co. gerühmten Riesenerfolge eine abwartende Haltung gegenüber dem neuen Impfmittel geboten erscheinen. Wie berechtigt das war, zeigen die nachfolgend besprochenen Versuche.

Die für diese erforderlichen Nitrokulturen wurden auf Veranlassung Sr. Excellenz des Herrn Ministers für Landwirtschaft dem Berichterstatter durch Vermittelung der Vertreter der Nitroculture Co., J. Brooks Joung in Berlin, Köthenerstr. 3, zur Prüfung überwiesen. Die Versuche begannen unmittelbar nach der Ueberweisung um Mitte Juli 1905 und wurden im Jahre 1906 fortgesetzt. Die Bereitung der Impfbrühen erfolgte genau nach den nachfolgenden, den Nitrokulturen beigegebenen Vorschriften:

1) Die Bereitung der Lösung:

„Man nehme einen Krug oder eine Flasche, die gründlich ausgebrüht werden muß. Nach Abkühlung fülle man das Gefäß mit der auf dem Paket A vermerkten Menge reinen Wassers und füge den Inhalt der Pakete A und B dazu, indem man bis zur völligen Lösung schüttelt. Man bedecke nun das Gefäß und stelle es an einen warmen, schattigen Ort, indem man eine höhere Temperatur als 100° F vermeidet. Nach Ablauf von 24 Stunden füge man den Inhalt des Packetes C hinzu und lasse die Mischung so lange stehen, bis sie milchig wird. Dies pflegt gewöhnlich nach 24—36 Stunden zu geschehen, je nach der Temperatur. Wenn das Wasser sehr kalt gehalten worden ist, dauert es länger, ehe die Flüssigkeit milchig wird.“

2) Das Okulieren des Samens:

„Mit der laut obiger Vorschrift bereiteten milchigen Lösung befeuchte man gründlich den zu pflanzenden Samen, doch tränke man ihn nicht damit. Sobald der ganze Samen mit der Lösung in Berührung gekommen ist, breite man ihn an einem schattigen Platze zum Trocknen aus. Wenn trocken, kann der Samen sogleich gepflanzt, oder auch mehrere Wochen lang, ohne Schaden zu erleiden, aufbewahrt bleiben, vorausgesetzt, daß er trocken und schattig gehalten bleibt.

Sollte von der Lösung etwas übrig bleiben, so füge man eine Gallone Wasser hinzu und vermische dies mit Sand oder Erde. Diese okulierte Erde streue man dann über das Feld und egge sie ein, wodurch dem Boden eine Extraquantität von Nitrokultur beigegeben wird“.

Die als Kennzeichen der Reife angeführte milchige Trübung war bei der Verwendung der Brühen überall eingetreten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## A. Die bakteriologische Prüfung der Nitrokulturen.

An Bakterienarten fehlte es in den reifen Nährlösungen natürlich nicht. Da aber die zu ihrer Herstellung benutzten Stoffe von vorneherein nicht keimfrei sind und bei der Herstellung der Lösungen laut Vorschrift Infektionen unvermeidlich sind, handelt es sich natürlich um ein Gemisch verschiedener Arten. Im Jahre 1905 entwickelte sich auf Pferdebohnenextraktgelatine, in welche eine Spur der reifen Impfbrühe gebracht war, neben einem stark verflüssigenden Bakterium (vermutlich Bacterium fluorescens liquefaciens Flügge), überwiegend auch ein nicht verflüssigendes Bakterium, welches zunächst einige Aehnlichkeit mit dem Knöllchenbakterium aufwies. Später zeigten sich aber sehr deutliche Unterschiede. Es fehlte die den Knöllchenbakterien eigene starke Schleimbildung auf Gelatine. Die Gelatinestrichkulturen zeigten ausgesprochene seitliche Ausbuchtungen, die den Knöllchenbakterien fehlen. Auch in der Größe wurde das letztere von der vorliegenden Art übertroffen. Knöllchenbakterien konnten auf der Pferdebohnenextraktgelatine mit Sicherheit überhaupt nicht nachgewiesen werden.

Im Jahre 1906 wurden die neu überwiesenen Nitropäckchen zunächst in zwei Hälften geteilt und jede derselben der beigegebenen Vorschrift entsprechend zur Herstellung von Impfbrühen benutzt. Der eine Teil fand zur Durchführung der unter B erwähnten Pflanzenversuche, der andere zur bakteriologischen Prüfung Verwendung. Die Herstellung der Impfbrühen erfolgte wieder genau der Vorschrift entsprechend mit der Vorsichtsmaßnahme, daß die Impfbrühen in vorher vollständig sterilisierten Glaskolben hergestellt und während des Reifens durch Watteverschlüsse gegen Außeninfektion geschützt wurden. Zum Vergleiche wurden gleichzeitig mit den Impfbrühen und unter gleichen Bedingungen Lösungen angesetzt, welche in einmal abgekochtem Wasser nur die zur Herstellung der Nährflüssigkeit vorgeschriebenen Stoffe ausschließlich der Watte enthielten. Die bei 24,4°—26,5° C im Thermostaten stehenden Impfbrühen zeigten die als Kennzeichen der Reife verlangte milchige Trübung am 5. Tage deutlich. An diesem Tage erfolgte die Impfung des zu den Pflanzenversuchen benutzten Saatgutes und Bodens. 2 Tage später war die milchige Trübung in allen Kolben stark. An diesem Tage begann die bakteriologische Prüfung. Nach weiteren 2 Tagen zeigten die Impfbrühen starke Gasentwickelung.

Zur bakteriologischen Prüfung wurde zunächst ein Tropfen der stark milchig gewordenen Impfbrühe in Erbsen- bezw. Bohnengelatine gebracht, welche im Liter den Auszug von je 100 g junger Erbsen- bezw. Bohnenpflanzen enthielten. Mit Hilfe dieser Nährböden wurden Plattenkulturen in drei Verdünnungen und außerdem rohe Stich- und Strichkulturen angesetzt. Die Untersuchung der erwähnten blinden Vergleichslösungen begann am 8. Mai. Sämtliche nachfolgende Beobachtungen wurden bei Zimmertemperatur gemacht, die in der Regel um 20° herum lag.

### I. Plattenkulturen von Vicia Faba.

Auf sämtlichen Platten zeigten sich mit dem 3. Tage beginnend zwei deutlich unterschiedene Bakterienarten:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a) Ein der Zahl nach weit überwiegendes, nicht verflüssigendes Bakterium, welches sehr kleine, trocken aussehende Kolonieen von grauer Farbe bildete.

b) Große flache Kolonieen von einem weniger häufig vorkommenden stark verflüssigendem Bakterium.

Knöllchenbakterien wurden nicht gefunden.

### II. Plattenkulturen von Pisum sativum.

Mit dem 3. Tage beginnend erschienen zahlreiche, ganz kleine, eingebettete Kolonieen an der Oberfläche, die anfänglich grau waren, später teilweise hellgelbe, teilweise dunkelgelbe Färbung annahmen. Die bei Vicia Faba erwähnten verflüssigenden Kolonieen waren hier zwar auch vertreten, jedoch wesentlich schwächer als bei Vicia Faba.

Knöllchenbakterien konnten auch hier mit Sicherheit nicht festgestellt werden.

### III. Plattenkulturen der blinden Vergleichslösungen.

Wie erwähnt, bestanden die blinden Vergleichslösungen aus genau denselben Materialien, die zur Herstellung der flüssigen Nährmedien für die Nitrokulturen verwendet waren, also aus abgekochtem Wasser, Nährsalz und Zucker in sterilen und gegen Außeninfektion geschützten Glasgefäßen. Nur die als Bakterienträger dienende Watte fehlte hier. Wie nicht anders zu erwarten war, fand trotzdem Bakterienentwickelung auf Kosten der in dem einmal abgekochten Wasser und in den Nährmedien befindlichen Dauerormen statt. Im wesentlichen zeigte sich auf den Platten dieselbe Vegetation wie bei den Plattenkulturen der Bohne. Die bei der Erbse erwähnten gelb gefärbten Kolonieen fehlten jedoch.

Die Beobachtung der rohen Stich- und Strichkulturen bestätigte im allgemeinen die Ergebnisse der bei den Zählplatten gemachten Beobachtungen.

### IV. Nähere Prüfung der auf den Platten entwickelten Bakterienarten.

Von den deutlich unterscheidbaren Arten auf den Zählplatten wurden behufs näherer Prüfung Abimpfungen auf Erbsen- und Pferdebohnengelatine, später auch auf Fleischsaftgelatine und Fleischsaftagar (nach Lehmann-Neumann) vorgenommen. Zum Vergleiche dienten gleichzeitig hergestellte Abimpfungen von Reinkulturen von Hiltnerschen Nitraginkulturen. Diese Untersuchungen führten zu folgenden Feststellungen:

1) Das auf allen Platten in größerer oder geringerer Zahl beobachtete verflüssigende Bakterium wurde als Bacterium fluorescens liquefaciens Flügge identifiziert und scheint dem abgekochten Wasser zu entstammen.

2) Die trockenen, nicht verflüssigenden Kolonieen auf den Bohnenplatten zeigten die Eigentümlichkeiten von Bacterium fluorescens putidum Flügge.

3) Die dunkelgelben Kolonieen auf den Erbsenplatten erwiesen sich

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

als eine Sarcina-Art, die der von Lehmann-Neumann beschriebenen Sarcina lutea ähnlich ist.

4) Die auf den Erbsenplatten gefundenen weichen, hellgelben Kolonieen konnten bisher nicht bestimmt werden. Auf alle Fälle waren es keine Knöllchenbakterien. Es handelt sich um eine Art, welche nach der ersten Abimpfung auf künstliche Nährboden sehr häufig als Verunreinigung neben Wurzelknöllchenbakterien gefunden wird, und welche demnach häufig in der Rhizosphäre der Leguminosen vorzukommen scheint.

Die zum Vergleiche angesetzten Knöllchenbakterienkulturen auf Fleischsaftgelatine entwickelten sich gut, unterschieden sich jedoch im Aussehen so deutlich von allen aus den Impfbrühen isolierten Arten, daß eine Verwechselung ganz ausgeschlossen erscheint. Auf dem Agarnährboden wuchsen die Knöllchenbakterien nur höchst kümmerlich oder gar nicht.

Das Gesamtergebnis der bakteriologischen Prüfung war demnach, daß Knöllchenbakterien in den mit Nitrokulturen hergestellten Impfbrühen genau wie im Vorjahre überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten.

### B. Pflanzenversuche mit Nitrokulturen und Nitragin.

Im Jahre 1905 wurden nur Gefäßversuche mit Erde zu Erbsen durchgeführt. Jedes Gefäß erhielt als Grunddüngung

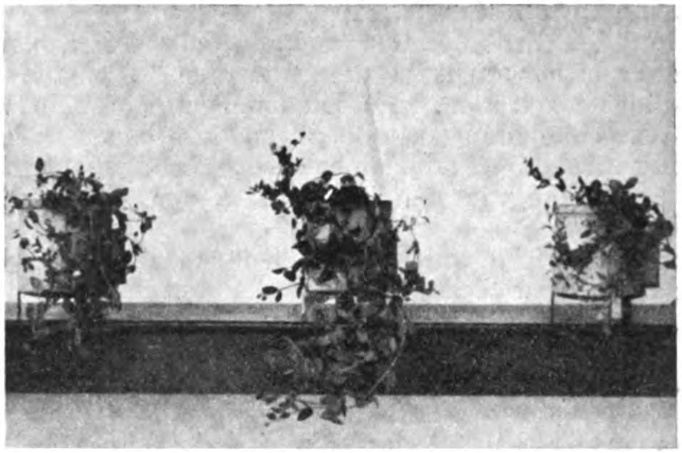
10 g kohlensauren Kalk,
0,5 g Kali als Chlorkalium und
0,4 g Phosphorsäure als Superphosphat.

Der Erdinhalt jedes Gefäßes belief sich auf 5,91 kg Trockenboden. Sämtliche Gefäße wurden vor dem Bepflanzen im Dampftopf durch zweistündiges Erhitzen pasteurisiert und am 21. Juli mit Viktoriaerbsen bepflanzt. Dabei wurden 3 Reihen gebildet, von denen

1) ungeimpft blieb,
2) mit Nitrokulturen,
3) mit Nitragin geimpft wurde.

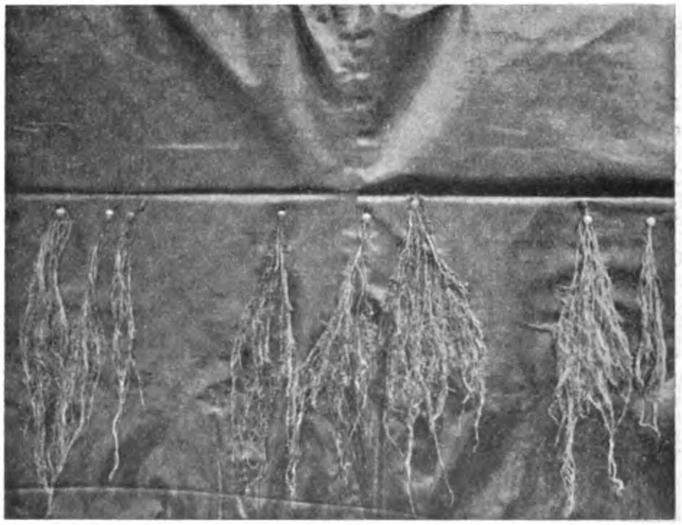
Das für diese und alle späteren Versuche verwendete Nitragin hatte Herr Dr. Hiltner-München freundlichst zur Verfügung gestellt. Durch sorgsamsten Infektionsschutz und ausschließliche Verwendung von abgekochtem Wasser zum Begießen wurde eine Uebertragung von Knöllchenbakterien von Reihe zu Reihe und von Gefäß zu Gefäß möglichst zu verhindern gesucht, was im allgemeinen auch gelang. Schon während des Wachstums zeichneten sich die mit Nitragin geimpften Pflanzen durch üppigen Wuchs und dunkles Aussehen vorteilhaft aus, während die mit Nitrokulturen geimpften Töpfe sich äußerlich nicht von den ungeimpften unterschieden. Die beifolgende Abbildung 1 zeigt die Unterschiede im Stande deutlich. Bei der Ernte, welche der fortgeschrittenen Jahreszeit wegen vor der Blüte erfolgte, wurde so verfahren, daß bei 2 Töpfen die Wurzeln mit Hilfe eines kräftigen Wasserstrahls freigelegt wurden. Es zeigte sich, daß die mit Hiltnerschem Nitragin geimpften Pflanzen sehr starken Knöllchenbesatz aufwiesen, während die ungeimpften und die mit amerikanischen Nitrokulturen geimpften Pflanzen knöllchenfrei waren bis auf ganz wenige, offenbar durch ungewollte Infektion entstandene Knöllchen an den jüngsten Wurzelenden. Abbildung 2 zeigt

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Ungeimpft. Nitragin. Nitrokultur.

Fig. 1. Gefäßversuch in pasteurisiertem Sand 1905.



Ungeimpft. Nitragin. Nitrokultur.

Fig. 2. Gefäßversuch in pasteurisiertem Sand 1906.

die diesbezüglichen Unterschiede deutlich. Bei den drei von jeder Reihe übrig bleibenden Töpfen wurde in der üblichen Weise eine Ernteermittelung vorgenommen, deren Ergebnis folgt:

| Reihe | Gefäße | Sonderbehandlung | Ertrag an Trockensubstanz vom Gefäß g | In der Trockensubstanz Stickstoff Proz. | In der Gefäßernte Stickstoff g |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 11—15 | Ungeimpft | 34,2 | 2,27 | 0,776 |
| 2 | 6—10 | Nitrokultur | 33,7 | 2,36 | 0,795 |
| 3 | 1—5 | Nitragin | 43,7 | 3,30 | 1,442 |

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das zahlenmäßige Ergebnis bestätigt durchaus den augenscheinlichen Befund und zeigt:

1) eine sehr gute Wirkung des Nitragins,

2) ein vollständiges Versagen der amerikanischen Nitrokultur.

Im Jahre 1905 gelangten die Pflanzenversuche zur vergleichenden Prüfung von Nitro- und Nitraginkulturen zum Teil in Vegetationsgefäßen, zum Teil im Felde zur Durchführung. Als Medien für die Vegetationsversuche fanden

1) wässerige Nährlösungen,

2) pasteurisierter Sand,

3) ein pasteurisiertes Gemenge von 75 Proz. Quarzsand und 25 Proz. Versuchsfeldboden Verwendung.

Das Pasteurisieren erfolgte durch einmaliges einstündiges Einstellen der gefüllten und mit Pergament überbundenen Töpfe in den Kochschen Dampftopf.

### I. Versuche in Nährlösungen.

Die in sterilisiertem Sande vorgekeimten Erbsen bezw. Bohnen wurden am 7. und 8. Tage zunächst in kleine, 150 ccm fassende Glasgefäße gebracht, welche mit einer Nährlösung von folgender Zusammensetzung beschickt waren:

a) 1 l destilliertes Wasser,
b) 0,5 g Ammonnitrat,
c) 0,5 g Chlorkalium,
d) 0,5 g schwefelsaurer Kalk,
e) 0,5 g schwefelsaure Magnesia,
f) 0,25 g Ferrophosphat,
g) 0,25 g Tricalciumphosphat.

Nachdem die Wurzeln ungefähr 15 cm lang geworden waren, wurden die Pflanzen unter sorgsamstem Schutz gegen Infektion am 20. Mai in Litergefäße überführt, welche mit folgender Nährlösung beschickt waren:

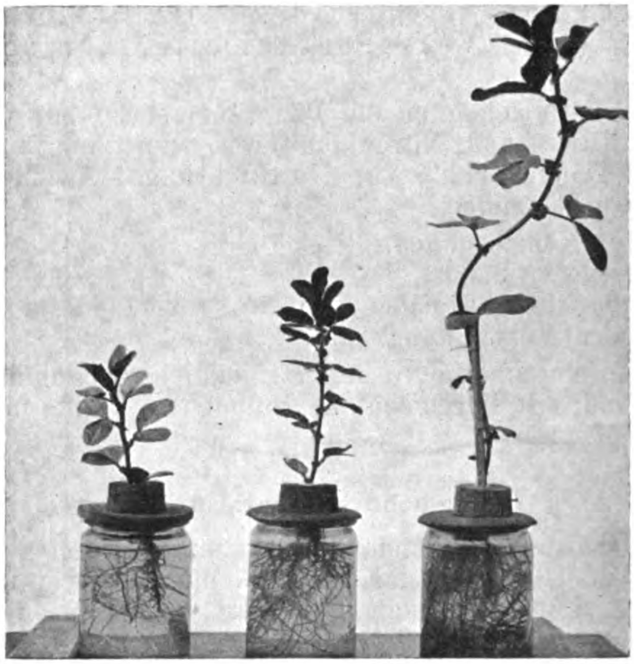
a) 1 l destilliertes Wasser,
b) 0,5 g Chlorkalium,
c) 0,5 g schwefelsaurer Kalk,
d) 0,5 g schwefelsaure Magnesia,
e) 0,25 g Tricalciumphosphat,
f) einige Kubikcentimeter frisch gefälltes Eisenhydroxyd.

Jetzt wurden 3 Reihen zu 3 Gefäßen gebildet, von denen:

Reihe 1 ungeimpft blieb,
„ 2 mit 1 ccm Impfbrühe der amerikanischen Nitrokulturen,
„ 3 mit etwas Aufschwemmung von Hiltnerschen Nitraginkulturen geimpft wurde.

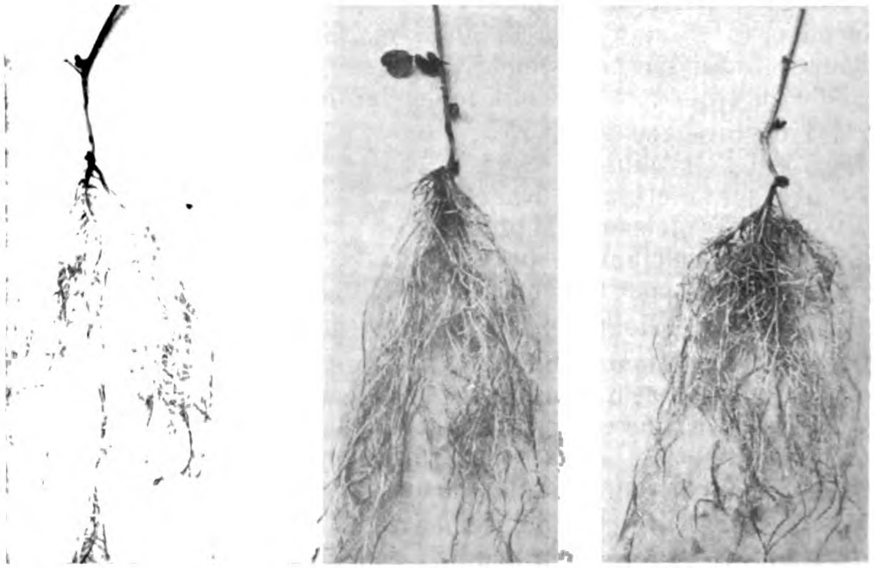
Das Wasser wurde in demselben Maße ersetzt als es verdunstete. Selbstverständlich wurde zum Schutze gegen Infektion stets abgekochtes Wasser zugegeben und auch sonst jede Vorsichtsmaßnahme angewandt. In der Entwickelung und in der Knöllchenbildung zeigten sich alsbald deutliche Unterschiede, von denen die Mitte Juni aufgenommenen photo-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 3. Wasserkulturversuche 1906.

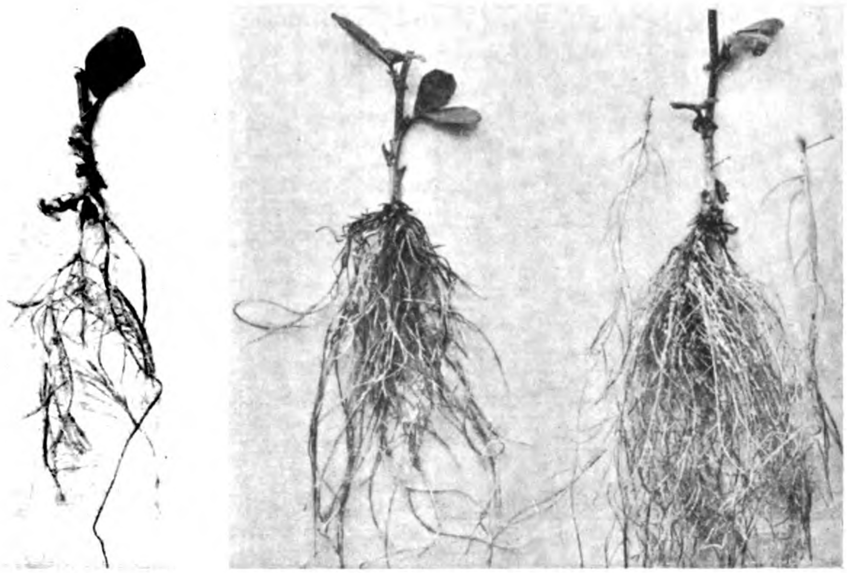


Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 4. Wasserkulturversuche 1906. Erbsenwurzeln.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

graphischen Bilder 3—5 eine Vorstellung geben. Eine Ernteermittelung fand bei diesen Versuchsreihen nicht statt. Die Bilder zeigen aber ganz deutlich, daß die amerikanischen Nitrokulturen weder eine Förderung



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 5. Wasserkulturversuche 1906. Bohnenwurzeln.

des Wachstums noch eine Knöllchenbildung veranlaßt haben. Im Gegensatz zu ihnen ist die Wirkung der Hiltnerschen Nitraginkulturen sowohl auf das Wachstum als auch auf die Knöllchenbildung in die Augen fallend.

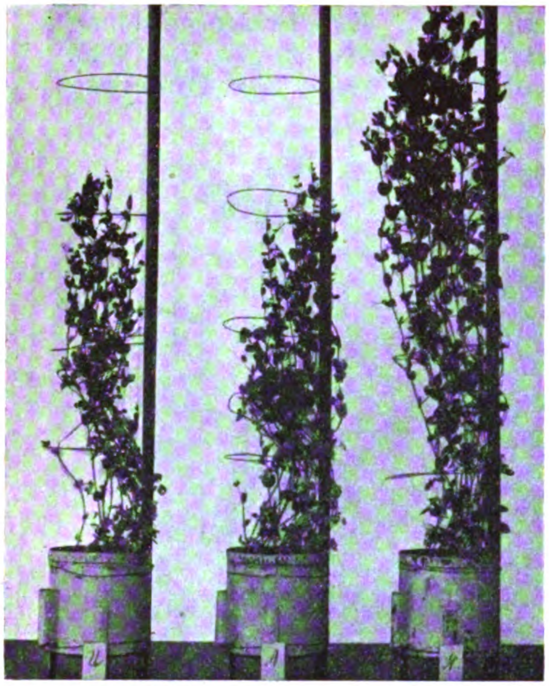
## II. Vegetationsversuche in pasteurisiertem Sande.

Zur Durchführung dieser Versuche wurden die Töpfe mit 7 kg Quarzsand beschickt. Die Düngung bestand bei der Bestellung pro Gefäß aus:

0,5 g Ammonnitrat,
0,75 g Chlorkalium,
1,0 g Calciumsulfat,
1,0 g Magnesiumsulfat,
0,25 g Ferrophosphat,
5,0 g kohlensauren Kalk,
5,0 g Dextrose,
1,0 g Tricalciumphosphat.

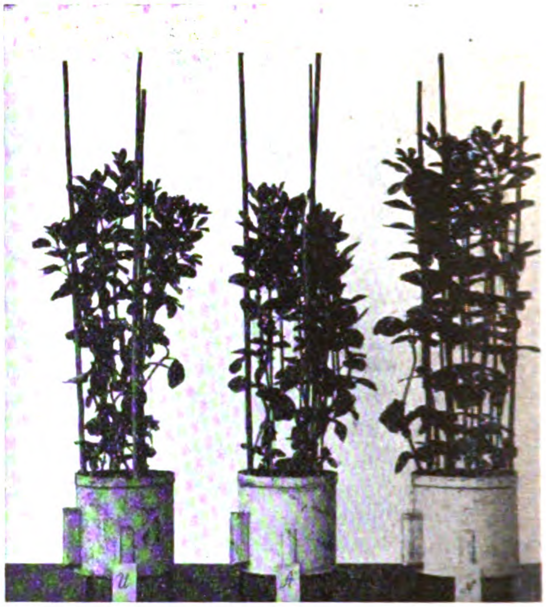
Am 11. Juni erhielt jedes Gefäß außerdem 1 g Dikaliumphosphat. Die Aussaat erfolgte bei den ungeimpften Töpfen am 4., bei den geimpften Töpfen am 5. Mai. Dabei wurde sowohl die Saat als auch der Boden in der vorgeschriebenen Weise mit Impfbrühe bezw. mit Aufschwemmung von Hiltnerschen Nitraginkulturen geimpft. In der Entwickelung der Pflanzen in den verschiedenen Reihen zeigten sich bald sehr ausgesprochene Unterschiede, die sich aus den beigegebenen

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 6. Gefäßversuch mit Erbsen in pasteurisiertem Sand 1906.



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 7. Gefäßversuch mit Bohnen in pasteurisiertem Sand 1906.

**Tabelle I. Gefäßversuche in pasteurisiertem Quarzsand 1906.**

| Versuchsreihe | Gefäße No. | Sonderbehandlung | Ernte an Trockensubstanz pro Gefäß g | | | In der Trockensubstanz Stickstoff Proz. | | | In der Gefäßernte Stickstoff g | | | | Beobachtungen über Wurzelknöllchenbildung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | a | b | c | a | b | c | a | b | c | Mittel | |
| | | | **I. Versuche mit Erbsen (Pisum sativum).** | | | | | | | | | | |
| 1 | 53, 55, 57 | Ungeimpft | 12,5 | 13,8 | 10,1 | 1,77 | 2,19 | 1,86 | 0,220 | 0,302 | 0,188 | 0,237 | 53 u. 57 vollständig knöllchenfrei. Bei 55 zeigen sich an den Spitzen einiger Nebenwurzeln kleine Knöllchen |
| 2 | 72, 75, 76 | Nitrokultur | 13,5 | 13,1 | 12,7 | 2,37 | 3,05 | 1,83 | 0,320 | 0,400 | 0,230 | 0,317 | 75 u. 76 knöllchenfrei. Bei 72 zeigen einige Pflanzen einige Knöllchen an den Nebenwurzeln |
| 3 | 89, 90, 95 | Nitragin | 20,2 | 19,9 | 23,4 | 3,12 | 3,26 | 3,21 | 0,630 | 0,649 | 0,751 | 0,677 | Alle Pflanzen sind stark mit Knöllchen besetzt, die überwiegend an den Nebenwurzeln 1. Ordnung stehen |
| | | | **II. Versuche mit Pferdebohnen (Vicia F. minor).** | | | | | | | | | | |
| 1 | 40, 46, 51 | Ungeimpft | 32,6 | 30,1 | 27,7 | 1,56 | 1,66 | 1,80 | 0,509 | 0,450 | 0,499 | 0,486 | 40 u. 51 knöllchenfrei. Bei 46 einige Knöllchen an den Nebenwurzeln |
| 2 | 59, 61, 68 | Nitrokultur | 26,5 | 32,1 | 28,5 | 1,54 | 1,40 | 1,56 | 0,408 | 0,449 | 0,445 | 0,434 | Alle Gefäße knöllchenfrei |
| 3 | 79, 86 | Nitragin | 37,8 | 41,0 | — | 2,53 | 2,40 | — | 0,956 | 0,984 | — | 0,970 | Ueberall starke Knöllchen an der Hauptwurzel und besonders an den Nebenwurzeln 1. Ordnung |

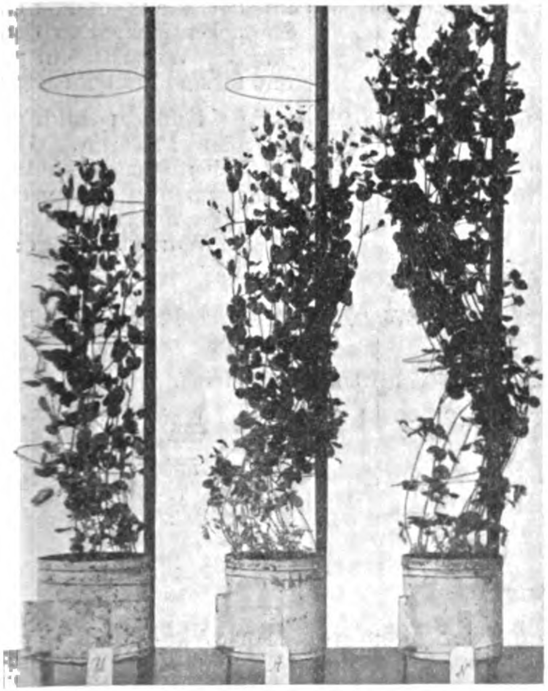
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

photographischen Abbildungen 6 und 7 ergeben. Das Ernteergebnis für die bei beginnender Blüte abgeschnittenen Pflanzen ist in Tabelle I zusammengestellt.

Die Zahlen in der Tabelle I zeigen wiederum auf das deutlichste die Ueberlegenheit der Nitragin- über die amerikanischen Nitrokulturen. Die letzteren haben bei der Pferdebohne unbedingt vollständig versagt. Auch bei der Erbse ist die Wirkung der Nitrokulturen so gering und so unregelmäßig, daß wir das geringe Mehr an Stickstoff ruhig den ungewollten Zufallsinfektionen zur Last schreiben dürfen.

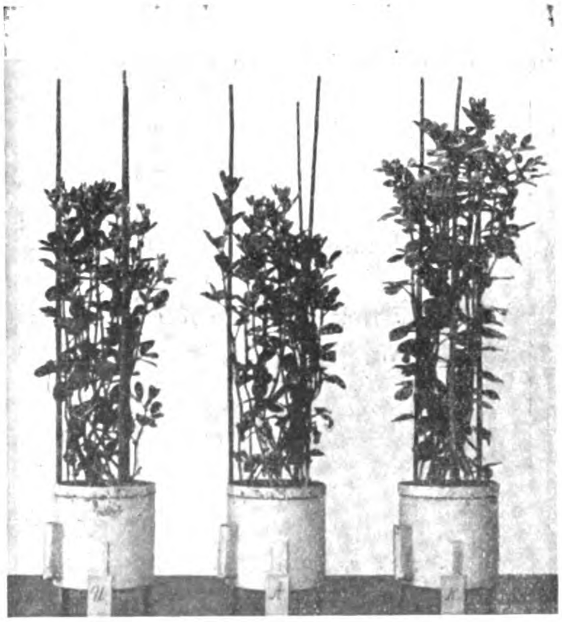
### III. Vegetationsversuche in pasteurisierter Erde.

Wie bereits erwähnt, fand für diese Versuche ein Gemisch von $^3/_4$ Quarzsand und $^1/_4$ Versuchsfeldboden Verwendung. Jedes Gefäß wurde mit 7 kg dieses Bodens beschickt. Als Grunddüngung erhielt jedes Gefäß 6 kg kohlensauren Kalk, 1 g Chlorkalium und 2 g Doppelsuperphosphat vor der Saat und außerdem am 11. Juni 1 g Dikaliumphosphat. Die Bestellung erfolgte am 4. und 5. Mai, die Impfung gleich-



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

ig. 8. Gefäßversuch mit Erbsen in pasteurirter Erde 1906.



Ungeimpft. Nitrokultur. Nitragin.

Fig. 9. Gefäßgesuch mit Bohnen in pasteurisierter Erde 1906.

zeitig und in derselben Weise wie bei den unter II. erwähnten Versuchen. Auch hier traten während der Entwickelung deutliche Unterschiede im Stande der Pflanzen zu Tage, von denen die Abbildungen 8 und 9 eine Vorstellung geben. Die Ernte erfolgte bei beginnender Blüte am 26. Juni. Das Ergebnis ist in Tabelle II zusammengestellt. Auch dieser Versuch bestätigt im wesentlichen wieder die früher erwähnten

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Feststellungen. Die kleine Differenz zu Gunsten der mit Nitrokulturen geimpften Erbsentöpfe ist wohl wieder auf Zufälligkeiten zurückzuführen, so daß man auch hier die Nitrokulturen als vollständig wirkungslos bezeichnen kann.

Tabelle II. Gefäßversuche in pasteurisierter Erde 1906.

| Versuchsreihe | Gefäße No. | Sonderbehandlung | Ernte an Trockensubstanz pro Gefäß g | | | In der Trockensubstanz Stickstoff Proz. | | | In der Gefäßernte Stickstoff g | | | | Beobachtungen über Wurzelknöllchenbildung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | a | b | c | a | b | c | a | b | c | Mittel | |
| | | | | | | I. Versuche mit Erbsen. | | | | | | | |
| 1 | 7, 35, 38 | Ungeimpft | 12,1 | 15,5 | 15,6 | 1,85 | 1,74 | 2,35 | 0,224 | 0,270 | 0,367 | 0,287 | 7 ist knöllchenfrei. In den zwei übrigen Gefäßen einige kleine Knöllchen an den jüngeren Nebenwurzeln |
| 2 | 93, 97, 98 | Nitrokultur | 22,8 | 17,6 | 23,5 | 2,43 | 1,71 | 1,78 | 0,554 | 0,300 | 0,418 | 0,424 | Gefäß 93 ist ziemlich stark infiziert, die vorhandenen Knöllchen stehen an den jüngeren Wurzelteilen. 97 und 98 sind knöllchenfrei. |
| 3 | 103, 104 | Nitragin | 27,2 | 35,0 | — | 3,14 | 3,20 | — | 0,854 | 1,020 | — | 0,937 | Starke Knöllchenbildung an allen Pflanzen. Die Knöllchen stehen bei 103 mehr an den jüngeren, bei 104 mehr an den älteren Wurzelbildungen |
| | | | | | | II. Versuche mit Pferdebohnen. | | | | | | | |
| 1 | 4, 5, 6 | Ungeimpft | 27,1 | 26,5 | 28,3 | 2,32 | 2,34 | 2,38 | 0,629 | 0,620 | 0,674 | 0,641 | Sämtliche Pflanzen knöllchenfrei |
| 2 | 69, 91, 92 | Nitrokultur | 35,5 | 37,0 | 37,7 | 1,62 | 1,95 | 1,89 | 0,575 | 0,721 | 0,713 | 0,670 | Desgleichen |
| 3 | 99, 102 | Nitragin | 35,8 | 42,7 | — | 2,98 | 2,76 | — | 1,167 | 1,179 | — | 1,173 | Starke Knöllchenbildung an der Hauptwurzel und dem oberen Teil der Nebenwurzeln 1. Ordnung bei allen Pflanzen. |

## IV. Feldversuche.

Die Feldversuche gelangten auf dem Versuchsfelde der Akademie zur Durchführung. Dasselbe befindet sich in einem recht guten Düngungszustande. Die zum Versuche benutzte Feldabteilung hatte im Vorjahre Runkelrüben getragen, war im Dezember mit Superphosphat und Kalisalz gedüngt und tief gepflügt, im Frühjahr geschleift und durch Krümmern, Eggen und Walzen zur Saat vorbereitet. Das Ausdrillen der zu dem Versuch benutzten Viktoriaerbsen und Halberstädter Pferdebohnen erfolgte am 3. und 5. Mai unter tunlichstem Schutz gegen Bakterienübertragung. Der Aufgang erfolgte normal, die Entwickelung vollzog sich störungslos. Unterschiede im Stande konnten nicht festgestellt werden. Die Pferdebohnen wurden in der Blüte bei beginnendem Hülsenansatz, die Erbsen in der Reife geerntet. Das Ergebnis der Versuche ist in Tabelle III zusammengestellt.

Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle III. Feldversuche 1906.

| Versuchsreihe | Sonderbehandlung | Ertrag an Trockensubstanz pro ha dg | | In der Trockensubstanz Stickstoff Proz. | | In der Hektarernte Stickstoff kg | | | Beobachtungen über Wurzelknöllchenbildung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a | b | a | b | a | b | Mittel | |
| | | | | | A. Erbsen. | | | | |
| 1 | Ungeimpft | 51,6 | 43,7 | 3,22 | 3,14 | 166,2 | 137,2 | 151,7 | Knöllchenbildung überall unterschiedslos stark |
| 2 | Nitrokultur | 51,4 | 44,1 | 3,02 | 3,27 | 155,2 | 144,2 | 149,7 | |
| 3 | Nitragin | 47,1 | 39,2 | 2,94 | 3,29 | 138,4 | 128,9 | 133,7 | |
| | | | | | B. Pferdebohnen. | | | | |
| 4 | Ungeimpft | 47,4 | 51,5 | 2,99 | 2,78 | 141,7 | 143,2 | 142,5 | Knöllchenbildung war auf allen Parzellen sehr stark. Unterschiede waren nicht wahrzunehmen |
| 5 | Nitrokultur | 50,6 | 45,4 | 2,88 | 2,88 | 145,7 | 130,8 | 138,3 | |
| 6 | Nitragin | 46,7 | 45,5 | 2,83 | 2,82 | 132,2 | 128,3 | 130,3 | |

Es ergibt sich aus der Tabelle, daß alle Impfdünger vollständig wirkungslos geblieben sind, ein Befund, der durch die festgestellte reichliche spontane Knöllchenbildung zwanglos erklärt ist. Für die Wirksamkeit der Nitrokulturen besagen also die Feldversuche nichts. Die Frage, ob die geringfügigen, aber mit einer gewissen Regelmäßigkeit wiederkehrenden Ausfälle im Ertrage und in der Stickstofferntе auf den mit Nitragin geimpften Parzellen zufällig sind oder nicht, mag hier unerörtert bleiben. Vorübergehende Entwickelungshemmungen treten aber häufiger ein, wenn Hülsenfrüchte mit verhältnismäßig großen Mengen sehr wirksamer Knöllchenbakterien geimpft werden. Der Schaden wird durch die später um so üppigere Entwickelung in der Regel mehr als ausgeglichen.

Das Gesamtergebnis der Versuche bestätigt schlagend die Beobachtungen des Vorjahres. Es führt zu folgenden Feststellungen:

1) Bei der bakteriologischen Prüfung konnten in den mit Nitrokulturen hergestellten Impfbrühen keine Knöllchenbakterien gefunden werden.

2) Bei den durchgeführten Wasserkulturenversuchen bildeten die mit Nitrokulturen geimpften Hülsenfrüchte überhaupt keine Knöllchen, während die mit Nitragin geimpften, im übrigen aber gleich behandelten Pflanzen eine außerordentlich starke Knöllchenbildung aufwiesen.

3) Bei den Gefäßversuchen mit pasteurisiertem Sande und pasteurisierter Erde blieben die Nitrokulturen ebenfalls gänzlich wirkungslos, während die Nitraginkulturen unter denselben Bedingungen wiederum ausgesprochene Wirkungen auszuüben vermochten.

Der Befund macht es gewiß, daß die Knöllchenbakterien auch in Amerika das Austrocknen ohne Einbuße an Wirksamkeit ebensowenig ertragen wie hier. Von einer Verwendung der amerikanischen Nitrokulturen zur Hülsenfruchtimpfung sind infolgedessen Erfolge nicht zu erwarten.

---

Bei der Durchführung der Versuche leisteten die Assistenten Herr Dr. Ph. Schneider und Herr J. Stamm dem Berichterstatter dankenswerte Beihilfe.

---



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées.

Par **Paul Cruchet.**

**Avec 5 figures, 5 diagrammes et 1 planche.**
**(Fin.)**

## Puccinia Brunellarum-Moliniae nov. spec.

Pycnides abondantes, produisant à la face supérieure des feuilles des pustules hyalines; leur apparition provoque un changement de teinte du parenchyme qui devient jaunâtre. Elles sont sensiblement sphériques et mesurent environ 150 $\mu$ de diamètre.

Aecidies (Aecidium Prunellae Winter) réunies en groupes serrés, souvent circulaires, et assez grands, à la surface inférieure des feuilles, plus rarement à la face supérieure, quelquefois aussi sur les pétioles qui s'allongent alors légèrement. La tache produite sur la feuille s'entoure d'une auréole violette, puis devient brune. Péridium très développé, à bords évasés, frangés; les cellules, solidement reliées les unes aux autres, font plus ou moins saillie à l'intérieur et débordent (fig. 3) extérieurement sur la cellule située immédiatement au dessous; la paroi intérieure, irrégulièrement verruqueuse, est plus mince que l'extérieure qui est lisse. Aecidiospores bien disposées en séries, d'abord polyédriques par pression, puis allongées et devenant sensiblement rondes une fois en liberté. Diamètre 15—18 : 16—20 $\mu$; membrane incolore, finement verruqueuse à verrues serrées; contenu incolore, ce qui donne la teinte blanchâtre.

Urédos en amas petits, déchirant l'épiderme et remplacés très rapidement par les téleutospores. Spores faiblement elliptiques ou arrondies et mesurant 22 à 24 $\mu$ de large sur 22 à 26 $\mu$ de long. Membrane très épaisse 3 à 4 $\mu$, brun foncé à l'état mûr, et munies de verrues assez grossières, saillantes et inégalement espacées. Pores germinatifs au nombre de 3 mais visibles sur peu de spores.

Amas de téleutospores d'abord petits, puis grandissant jusqu'en automne; ils sont alors en coussinets plus ou moins allongés, mesurant

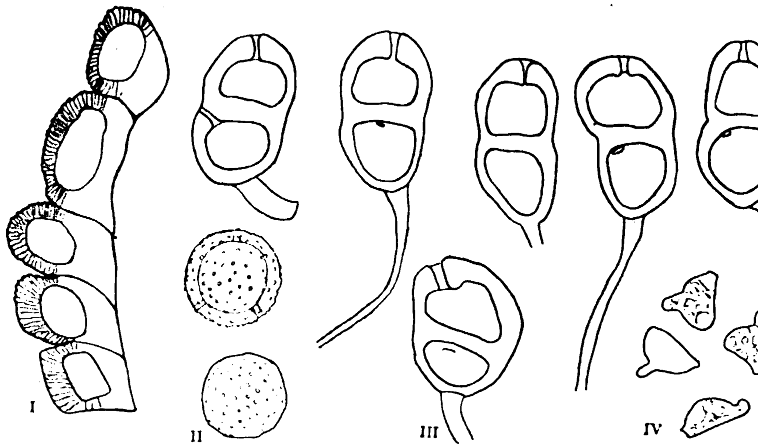



Fig. 3. Pucc. Brunellarum-Moliniae nov. spec. I. Cellules de la péridie vues de profil. II. Urédos. III. Téleutospores. IV. Basidiospores. Gr.: 400 pr. 1 et 500 pour les autres.

Generated on 2019-09-21 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

de 2 à 15 mm. environ de long; se développent de préférence à la face inférieure des feuilles; cependant il n'est pas rare de voir les mêmes amas faire saillie aussi à la face supérieure. Sur les chaumes les amas sont moins volumineux et moins fréquents. Téleutospores (planche, fig. 1) de formes diverses, plus ou moins arrondies aux deux extrémités, souvent atténuées vers la base, légèrement rétrécies en leur milieu (1—3 $\mu$ de chaque côté). Longueur 31—59 $\mu$, largeur 18—27 $\mu$. Dans les spores courtes, les deux cellules sont de même largeur, tandis que dans les longues, il arrive en général que l'une des deux est plus large que l'autre. Papille apicale brune, plus ou moins prononcée, mal délimitée, et même souvent impossible à discerner. Pores germinatifs, l'un au sommet, l'autre au-dessous de la cloison. Pédicelles adhérents, de 30—130 $\mu$ environ de long, jaunâtres dans presque toute leur longueur.

Plantes nourricières:

Pour les aecidies: Brunella vulgaris et grandiflora;

Pour les urédos et les téleutospores: Molinia coerulea.

Cette description est établie d'après les exemplaires du Flühgraben, et celle des téleutospores ne s'applique pas rigoureusement aux échantillons provenant des essais. En effet les téleutospores de l'essai 2 (1904), récoltées le 11 octobre, sont plus foncées, en général plus arrondies à la base, et en moyenne un peu moins longues que les spores naturelles. Celles de l'essai 4, récoltées le 15 novembre 1905, sont par contre d'un brun beaucoup plus clair; leur largeur plus faible leur donne un aspect plus effilé, dû aussi à la cellule inférieure en général atténuée dans le pédicelle.

Pour une raison indiquée plus loin, j'ai fait un certain nombre de mesures de largeur et de longueur, qui ont permis d'établir les courbes correspondantes (voir graphiques p. 677). Les valeurs de ces deux dimensions sont portées en abscisses et le nombre de spores correspondant, calculé en %, est en ordonnée.

Les courbes établies respectivement avec 250 spores du Flühgraben, 150 de l'essai 2 et 200 de l'essai 4 montrent les différences. Il faut ajouter que des courbes obtenues avec 50 ou 100 spores seulement étaient identiques ou à peu près à celles figurées.

Ces divergences dans l'aspect des spores obtenues en serre, ou dans leur milieu naturel, se sont vérifiées dans des préparations faites pourtant de diverses manières; acide lactique froid et plus ou moins chauffé ou encore mélangé d'eau. Des spores conservées dans cet acide depuis une année n'ont pas même changé; leur teinte seule s'est un peu éclaircie.

A Berne, la serre où se trouvait l'essai 2 était fraîche le matin et le soir, mais pendant la journée la température y était parfois torride (40° environ). A Payerne, par contre, l'essai 4 se trouvait dans une des serres en papier huilé, placée de telle façon qu'elle ne recevait le soleil que le matin et le soir. La température y était par le fait assez régulière. Est-ce là qu'il faut chercher la cause de ces différences? C'est possible, mais la preuve est insuffisante pour l'admettre d'emblée.

Voyons maintenant les deux autres formes venant sur Molinia, formes mentionnées plus haut:

## Puccinia nemoralis Juel.

En 1894 M. Juel trouve, près de Falun en Suède, des téleutospores sur Molinia coerulea dans le voisinage de l'Aecidium Melam-



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

pyri, et des essais lui montrent la même année, que ces deux formes appartiennent au même champignon qu'il nomme Pucc. nemoralis. Des téleutospores provenant de Hambourg permettent à M. Klebahn de vérifier le fait (Klebahn, Kulturversuche, Bd. VIII. p. 402). La description donnée par M. Juel (Öfv. k. vet. akad. Förh. 1894. p. 503) montre une grande analogie entre cette espèce et la P. Brun.-Moliniae. Les caractères donnés pour l'Aecidium Melampyri correspondent même à ceux de l'Aecid. Prunellae. Il en est de même pour les urédos autant que j'ai pu en juger par la seule description, car les échantillons envoyés par M. Juel en renfermaient très peu.

Les amas de téleutospores paraissent un peu plus clairs que dans P. Brun.-Moliniae et les spores ont une forme générale un peu plus ramassée. Les deux cellules sont sensiblement égales, cependant il semble que la cellule supérieure soit en général plus large que l'autre, tandis que dans l'espèce précédente et dans la suivante c'est moins régulier (planche, fig. 2).

Le graphique, établi comme pour P. Brun.-Moliniae avec 250 spores, montre que celles-ci ont même largeur que les autres, mais une longueur plus faible. Les pédicelles sont bruns, mais seulement à la base; ils sont assez courts, les plus longs ayant à peine 80 $\mu$.

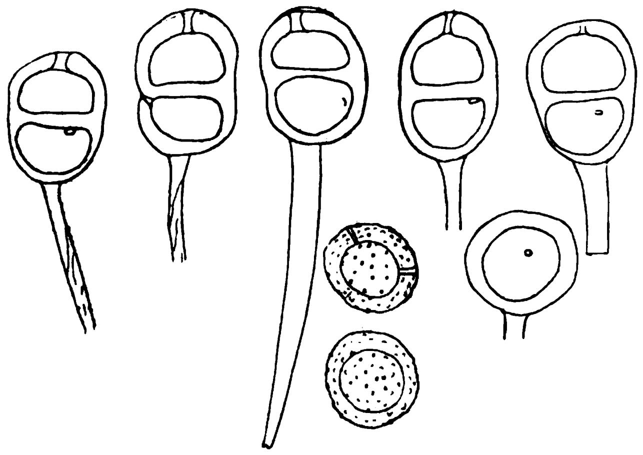


Fig. 4. P. nemoralis Juel. Urédos et téleutospores (l'une unisporée) de Falun (Suède). Gr. 500.

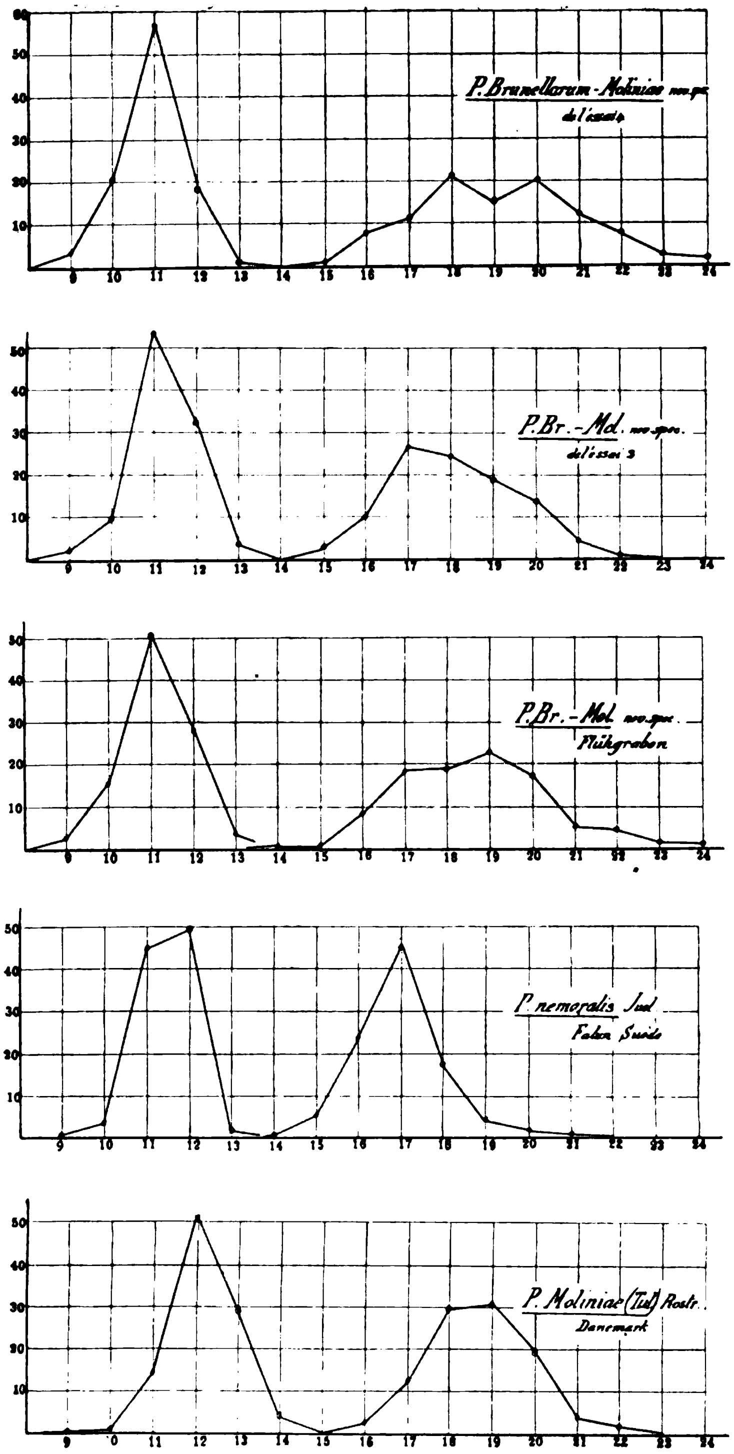
## Puccinia Moliniae (Tul.) Rostrup.

Tulasne avait donné le nom de P. Moliniae à celle dont les urédos et les téleutospores viennent sur Molinia. Plus tard M. Rostrup démontra qu'en Danemark P. Moliniae a ses aecidies sur Orchis (Rostrup, Bot. Tidskr. Kobenhavn). Suivant M. Schroeter, P. Moliniae et Aec. orchidearum se voient ensemble en Silésie.

MM. Klebahn (Die wirtswechselnden Rostpilze, p. 287) et Ed. Fischer (Die Uredineen der Schweiz, p. 257) n'ont pu admettre la correspondance entre Aecidium orchidearum Desm. et Pucc. Moliniae Tul., en s'appuyant sur le fait que les expériences ne sont pas suffisamment probantes, et sur la démonstration bien établie que les aecidies sur Orchis correspondent à des Puccinies du type de Pucc. sessilis.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Variation de la largeur.** **Variation de la longueur.**




Dans ces graphiques, les abscisses représentent les valeurs micrométriques (1 div. = 2,2 μ), et les ordonnées le nombre des spores en %.

En admettant ce point de vue, il devient nécessaire de rechercher si la forme danoise n'est pas identique à l'une des deux espèces P. nemoralis ou P. Brunellarum-Moliniae, auquel cas la forme identifiée reprendrait le nom plus ancien de P. Moliniae.

D'après M. Rostrup cité par M. Juel, la description de la forme danoise est la suivante (voir planche, fig. 3):

„Urédos en petit nombre, isolés, seulement dans les amas de téleutospores."

„Téleutospores plutôt largement elliptiques, formées par deux spores hémisphériques, à membrane épaisse, lisse et à long pédicelle. Parmi celles-ci se trouvent des spores plus allongées à pédicelle court. Pédicelles résistants et brunâtres surtout dans la partie supérieure."

Suivant ses observations, M. Juel remarque que les différences sont très minimes; cependant P. Moliniae présente plus fréquemment des téleutospores de forme allongée; les pédicelles sont un peu plus bruns et moins longs. J'ai parfaitement retrouvé ces deux différences dans les exemplaires obligeamment envoyés par M. Rostrup, et identiques à ceux qui lui ont servi pour ses infections d'Orchis majalis et mascula en avril 1874; ils ont été récoltés en Danemark.

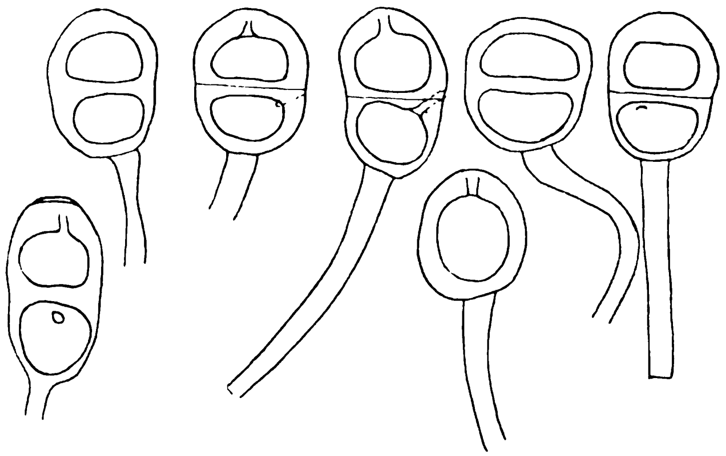


Fig. 5. P. Moliniae (Tul.) Rostrup. Téleutospores provenant du Danemark et récoltées en août 1873. Gr. 500.

Les graphiques établis pour constater d'une façon exacte la différence en longueur vue par M. Juel, montrent ce qui constitue la caractéristique de ces espèces; c'est pourquoi il m'a paru opportun de les ajouter à cette discussion. La comparaison des courbes de P. nemoralis et de P. Moliniae (p. 677) fait voir que les téleutospores ont beaucoup d'analogie, mais que les 1ères sont en moyenne plus petites dans leurs deux dimensions. Celles de P. Brunellarum-Moliniae sont encore moins larges, et leur longueur est très variable, ce qui donne à la courbe cette forme aplatie et allongée. J'ai dit que les téleutospores des essais avaient une forme un peu différente des spores naturelles. L'aspect des courbes ressemble, malgré cela, encore davantage à P. Brunellarum-Moliniae qu'aux autres.

En résumé, Pucc. Brunellarum-Moliniae nov. spec. diffère morphologiquement de ses congénères.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1° par ses téleutospores de longueur plus variable, de largeur plus faible et à cellule inférieure souvent atténuée à la base,

2° par les pédicelles colorés entièrement en brun pâle.

## Puccinia Stipae (Opiz) Héra.

Cette espèce assez fréquente sur Stipa capillata L. à Martigny (Bâtiaz), à Branson, et sans doute aussi ailleurs, y est accompagnée de l'Aecidium Thymi Fuck. M. Klebahn (Die wirtswechselnden Rostpilze) en citant les auteurs qui se sont, ainsi que lui-même, le plus occupés de cette Puccinie, conclut, mais non d'une façon certaine, qu'il doit exister une P. Thymi-Stipae (Opiz) à aecidies sur Thymus et une P. Salviae-Stipae à aecidies sur Salvia pratensis et silvestris.

Des aecidies sur Thymus serpyllum L. récoltées à Martigny le 24 mai 1904, et répandues sur Stipa capillata, ne donnèrent aucun résultat; et je résolus de recommencer, mais avec des téleutospores, en faisant l'essai suivant:

Essai avec téleutospores de Stipa capillata,

recueillies à Martigny (Bâtiaz), le 4 octobre 1904. Les chaumes passent l'hiver en sacs, mais au printemps ils sont à tel point détériorés qu'il n'y a que peu de matériel disponible. Celui-ci mis dans l'eau, puis essuyé, est placé le 17 mai 1905 sur:

1. Thymus serpyllum; Würtzbourg, de graines indiquées comme telles; la plante n'ayant pas fleuri je n'ai pu vérifier le nom exact.
2. „ „ du Suchet.
3. „ vulgaris, .Semis fait en 1904.

Le 19 mai, tout ce qui restait du matériel est placé sur:

4 et 5. Salvia pratensis arrachée près de Payerne.

En chambre humide, la germination est bonne depuis le commencement de mai seulement. et la formation des basidiospores est abondante.

Le 28 mai, les pycnides commencent sur le No. 2, puis sur No. 1, et enfin sur No. 3; elles sont suivies 2 jours plus tard d'aecidies abondantes, surtout sur les Nos. 2 et 3. Les deux Salvia pratensis, en pleine vigueur jusqu'au commencement de juillet, n'ont rien eu et n'ont pas même présenté le changement de teinte précédant les pycnides.

Il résulte donc, que P. Stipae, sur Stipa capillata de Martigny, rentre bien dans la forme P. Thymi-Stipae Klebahn, et ne serait pas capable d'infecter Salvia pratensis. Thymus vulgaris serait en outre un hôte nouveau pour l'aecidie.

## Puccinia Glechomatis DC.

P. verrucosa Schultz.

Cette Puccinie vit d'après Winter (Rabenhorst, Kryptogamen-Flora, 2. Aufl.) sur Salvia glutinosa, Glechoma hederacea et Lophantus nepetoides. MM. P. et H. Sydow (Monographia Uredinearum) en détachent la forme sur Salvia (Pucc. Salviae Ung.) et celle sur Lophantus, laissée de côté dans ce qui suit. M. Ed. Fischer (Uredineen der Schweiz) les réunit à nouveau sous le nom de P. Glechomatis, en attendant qu'il soit réellement démontré que ces formes diffèrent l'une de l'autre.

C'est ce dernier fait que j'ai cherché à élucider pendant l'été 1905; malheureusement, la question reste imparfaitement résolue, car les matériaux sur Salvia glutinosa m'ont totalement fait défaut. Des deux stations près de Payerne, où j'avais jadis recueilli des échantillons, il ne restait rien en 1904—1905.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Essai avec téleutospores de Glechoma hederacea.

Commencé le 24 mai 1905.

Le matériel provient de Montagny sur Yverdon. Au milieu d'une touffe de Glechoma, malades l'année précédente, se trouvaient le 11 mars 1905 de vieilles feuilles, mais toujours vertes avec des amas petits, brun foncé. Ces quelques feuilles furent mises en sac et rentrées un peu plus tard. Les essais de germination ne donnent de résultat que le 24 mai et le même jour tout le matériel était employé pour l'infection de,

1. Glechoma hederacea Cueilli à Payerne
2. Salvia glutinosa Graines de Munich (jardin bot.).

Cette dernière très vigoureuse a reçu intentionellement plus de matériel que le Glechoma. Ces plantes restent sous cloches pendant 5 jours. — Le 6 juin Glechoma hederacea présente quelques taches plus pâles sur les feuilles et pétioles. Des téleutospores pâles leur succèdent et propagent l'infection sur les feuilles inférieures Les premiers amas disparaissent au bout d'un mois environ, et ceux qui viennent ensuite, plus bruns, restent jusqu'en septembre. Au commencement de septembre, les feuilles et la plante entière sèchent, empêchant ainsi l'obtention des spores d'hiver. — Salvia glutinosa reste parfaitement indemne; son développement s'arrête fin juillet, mais sans que la plante périsse.

D'après cet essai il apparaît que la forme sur Glechoma n'est pas la même que celle sur Salv. glutinosa.

Le manque d'essai inverse diminue naturellement beaucoup la certitude de ce résultat.

### Examen morphologique.

Pour chercher si une différence morphologique existe entre ces 2 formes supposées, j'ai examiné les échantillons suivants:

| Plantes hôtesses | Provenance |
|---|---|
| 1. Glechoma hederacea | Bois de Lily près Montagny s/Yverdon (11 août 1899) |
| 2. „ „ | Bois des Planches près Montagny s/Yv. (août 1904) |
| 3. „ „ | Payerne (octobre 1899) |
| 4. „ „ | „ (arrière automne 1900) |
| 5. „ „ | Montagny s/Yv.; utilisé pour l'essai (11 mars 1905) |
| 6. Salvia glutinosa | Vallée de Lauterbrunnen [Oberland bernois] (10 juillet 1904) |
| 7. „ „ | Aiguilles de Baulmes [Jura] (5 octobre 1899) |
| 8. „ „ | Surpierre [Vallée de la Broie] (21 octobre 1899) |

Les Nos. 1, 2 et 6, cueillis en été, ont sur les feuilles de petits amas gris, en coussinets très denses, formés de spores à pédicelles solidement fixés. Chauffées dans l'acide lactique, elles sont presque hyalines, assez allongées et amincies aux deux bouts. Celles de Glechoma ne diffèrent pas dans leur ensemble de celles de Salvia, ni comme forme, ni comme dimensions.

Les No. 3, 4, 7 et 8 récoltés en automne, ainsi que le No. 5 (hiverné), ont deux sortes d'amas: les uns sont identiques à ceux de l'été avec spores en fuseau, claires ou foncées (celles-ci plus arrondies); les autres sont pulvérulents, brun foncé ou même presque noirs, surtout pour Glechoma, et les spores s'en détachent, munies de leur pédicelle, avec la plus grande facilité. D'après mes échantillons, ces amas se trouvent uniquement sous le limbe des feuilles pour le Glechoma, et pour Salvia sur les pétioles et les tiges, où ils émergent de l'épiderme déchiré, après avoir atteint des dimensions assez considérables. Il y en a aussi sous le limbe, mais en très petit nombre et difficiles à voir.

Les téleutospores de ces amas sont fortement brunes, plus larges pour la même longueur, ce qui leur donne un aspect différent des premières. Le prolongement en bec, si caractéristique, se retrouve presque partout. Les spores de Glechoma, prises dans les amas les plus pulvérulents, mesuraient en moyenne 20—24 $\mu$ de large et 31—40 $\mu$ de long. Celles de Salvia glutinosa mesuraient 17—22 $\mu$ de large et 35—44 $\mu$ de long. Ces chiffres (d'après 100 spores) indiquent les valeurs atteintes par la grande majorité des spores, à l'exclusion de celles qui ont des valeurs extrêmes. Donc, et cela se voit à première vue au microscope, les spores de Glechoma sont plus arrondies que celles sur Salvia. C'est là la seule différence que j'ai trouvée entre ces deux formes, mais elle n'est vraie que pour les amas dont les spores se détachent au simple contact de la pointe à disséquer.

Generated on 2019-09-21 16:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Ces deux formes ont donc beaucoup d'analogie entre elles; toutes deux possèdent des spores d'été claires, et des spores d'hiver (indiquées par MM. Sydow pour Glechoma) foncées et à parois plus épaisses. D'autre part le résultat de l'essai, la diversité d'habitat des plantes hôtesses, ainsi que certaines petites différences morphologiques montrent que l'on peut conserver la division indiquée en tête de cette étude et établie par MM. Sydow, soit: Pucc. Glechomatis DC. pour la rouille de Glechoma hederacea L. et Pucc. Salviae Ung. pour celle sur Salvia glutinosa L.

## Puccinia annularis (Strauss) Schlecht.

Les divers auteurs indiquent P. annularis comme étant une Leptopuccinia venant sur Teucrium Chamaedrys L., Scorodonia L. et flavum. Les deux premières plantes ont, chez nous, assez fréquemment ce parasite, surtout Teucr. Scorodonia et c'est dans le but de savoir si l'on a affaire ici à une même forme ou à deux formes distinctes, que j'ai fait les essais qui suivent.

### Essais avec téleutospores de Teucrium Chamaedrys.

Essai 1.

Commencé le 15 juin 1904.

Le matériel a été récolté le 11 juin 1904, près d'Yverdon; il est mis dans l'eau, puis essuyé et déposé en grande abondance sur:

1. Teucrium Chamaedrys provenant de Chamblon près Yverdon
2. „ Scorodonia „ du Jura

Les spores germent en chambre humide, mais donnent de rares basidiospores. Aucun résultat n'apparaît sur ces plantes, qui prospèrent bien en serre.

Essai 2.

Commencé le 16 mai 1905.

Le matériel provient de la même station que pour l'essai précédent et a été récolté le 11 mars 1905. C'étaient donc des spores de l'année précédente; beaucoup avaient germé ou possédaient encore des commencements de basides. Ce matériel, gardé à l'abri des intempéries, sert à infecter:

1. Teucrium Chamaedrys provenant du Suchet (Jura)
2. „ Scorodonia „ de Payerne.

Germination incertaine en chambre humide, car il n'est pas possible de savoir si les basides vues sont récentes ou formées avant la cueillette.

Le 2 juin, 17 jours plus tard, No 1 (Teucr. Cham.) présente plusieurs feuilles fortement courbées, et le 5 juin les amas de téleutospores surgissent un peu partout. Ceux-ci disparaissent en août et font place à des amas plus petits, paraissant souffrir, ainsi que toute la plante, de leur existence en serre. No. 2 (Teucr. Scorod.) n'a rien eu.

Ce second essai, que je me suis efforcé de faire dans les mêmes conditions que le premier, laisse l'impression que les téleutospores hivernées sont plus favorables à une telle infection que les spores d'été.

La forme sur Teucrium Chamaedrys paraît bien être une forme distincte. Les essais suivants le vérifieront d'une façon plus complète.

### Essais avec téleutospores de Teucrium Scorodonia L.

Essai 3.

Commencé le 28 avril 1905.

Le matériel employé a été recueilli à Baulmes le 11 mars 1905. L'aspect des amas hivernés était le même qu'en été, et aucune spore ne paraissait avoir germé,

Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

comme c'était le cas pour Teucr. Chamaedrys récolté le même jour. Les plantes sont infectées de la même manière que pour les essais 1 et 2.

1. Teucrium Scorodonia provenant de Payerne
2. „ Chamaedrys „ de Chamblon près Yverdon.

Sur porte-objet il se forme un assez grand nombre de basidiospores.

Après 4 jours passés sous cloches, ces plantes sont mises dans une serre à part. Le 13 mai une feuille du Teucr. Scorodonia présente des bosses, et le 22 les téleutospores se montrent sur cette feuille et plus tard sur d'autres. Le 24 juin, ces mêmes amas agrandis disparaissent avec les feuilles, sans que l'infection se soit propagée. Teucr. Chamaedrys n'a rien eu, quoiqu'il soit resté plus vigoureux que le premier.

Essai 4.

Commencé le 24 mai 1905.

La germination du matériel précédent étant toujours bonne, tout ce qui en restait est répandu sur:

1. Teucrium Chamaedrys de graines du jard. bot. d'Hambourg
2. „ „ de Chamblon près Yverdon.

Aucun résultat n'est survenu, ni sur les jeunes pousses, ni sur les feuilles plus âgées.

Teucrium Scorodonia nourrit donc une forme parfaitement distincte de celle de Teucrium Chamaedrys.

Toutes deux sont des Leptopuccinia, puisque l'infection se propage pendant l'été au moyen des basidiospores (essai 2). Quoique l'essai avec Teucrium Scorod. ne l'ait pas démontré pour cette plante, le fait est prouvé par les basides que l'on voit sur les amas, en été. En ne tenant compte que des échantillons hivernés, et recueillis le 11 mars 1905, on peut constater une différence entre ces deux formes; les amas de Teucrium Cham. renferment une majorité de spores déjà vides, et n'ont rien donné de satisfaisant dans les essais de germination sur porte-objet, tandis que ceux de Teucrium Scorod. ont encore leurs spores entières et ont germé plus complètement.

Une comparaison entre les échantillons d'herbier ne donne pas de différences bien sensibles. Les amas sur Teucrium Chamaedrys sont peut-être un peu plus bruns, et les téleutospores un peu plus grosses dans leurs deux dimensions que celles de l'autre forme; mais la différence est bien peu appréciable.

Il a été en outre impossible de trouver la moindre différence entre les spores d'été et les spores d'hiver, et on a l'impression qu'elles sont identiques, mais que la germination s'arrête simplement en hiver pour reprendre dès que les conditions de vie se présentent de nouveau.

Conclusions: En l'absence de toute différence morphologique il paraît inutile de dédoubler l'espèce P. annularis (Str.) Schlecht. Elle devient alors espèce collective formée chez nous par 2 formes:

1° F. sp. Chamaedryos (Pucc. Chamaedryos Cesati) s/Teucr. Chamaedrys;

2° F. sp. Scorodoniae (Pucc. Scorodoniae Link) s/Teucr. Scorodonia.

## Puccinia Stachydis DC.

Puccinia Stachydis que l'on trouve parfois sur Stachys recta L. est mentionnée par Winter (Rabenhorst, Krypt.-Flora) et par M. Sydow (Monographia Uredinearum) comme une Hemipuccinia. Or comme les plantes de ce groupe tendent à être réparties, soit dans les Eupuccinia, soit dans les Brachypuccinia, deux questions se posent:

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1° Pucc. Stachydis est hétéreucique, et alors où vit l'aecidie qui lui correspond?

2° Pucc. Stachydis rentre-t-elle dans les Brachypuccinia et possède-t-elle des pycnides?

Une 3ème question pouvait être résolue au cours de cette recherche: Pucc. Stachydis se retrouve-t-elle sur un autre Stachys, sur St. annua par exemple?

### Essai 1.

Commencé le 28 avril 1904.

Téleutospores provenant de Stachys recta, à Montagny sur Yverdon, récoltées en mars, d'autres en avril seulement. De nombreux essais, faits sur porte-objet, montrent que la formation des basidiospores se fait dans l'air humide seulement, et le matériel qui a donné le meilleur résultat est celui recueilli en avril, environ 1 mois plus tard que le premier. Au moment où les basidiospores se séparent de la baside, elles sont projetées à une distance qui peut atteindre $^1/_2$ à 1 mm.

Les branches téleutosporifères sont déposées humides sur les plantes suivantes:

1 à 4. Stachys recta, récoltées près de Berne
5. „ „ de graines du jard. bot. de Göttingen
6. „ spectabilis „ „ „ „ „ „ Paris
7 et 8. „ annua „ „ „ „ „ d'Upsala
9. „ silvatica „ „ „ „ „ „

Les Nos. 6 et 7 meurent un peu plus tard.

Le 20 mai seulement, soit après 22 jours d'incubation, les Nos. 1 et 2 présentent de petites pustules blanchâtres à la face supérieure des feuilles, et des boursouflures sur le bord. Le lendemain déjà, ces pustules, qui sont des pycnides blanchâtres, se trouvent accompagnées d'urédos. Ceux-ci deviennent de plus en plus nombreux les jours suivants, et la plupart de ces plantes atteintes continuent à avoir de nouvelles pycnides pendant quelques jours encore. Un peu plus tard les tiges aussi ont des urédos en assez grand nombre, mais le mycélium du champignon ne paraît pas s'étendre, et n'envahit pas les pousses. Les déformations sont très faibles, même nulles, quand les points d'infection sont peu nombreux. Ces résultats se sont vérifiés sur un Stachys recta, infecté abondamment le 4 mai, et qui le 20 présentait déjà des pycnides, puis des urédos.

Cet essai répond donc entièrement à la 2ème question énoncée plus haut: Pucc. Stachydis est bien une Brachypuccinia à urédos précédés de pycnides nombreuses.

### Essai 2.

Commencé le 19 mai 1904.

Même matériel que pour 1. Les plantes utilisées sont:

1. Stachys annua, graines du jard. bot. d'Upsala
2. „ recta, „ „ „ „ de Göttingen
3. „ „ récoltée près de Berne
4. „ silvatica, „ „ , „

Douze jours plus tard, le 31 mai, No. 1 a des pycnides. Le No. 3 en a ensuite, et le 7 juin les urédos apparaissent. No. 2 a péri, et le No. 4 n'a rien.

Stachys annua serait donc aussi plante hôtesse de la Pucc. Stachydis, mais comme la plante était encore très jeune, je ne pus en vérifier le nom et fis l'essai suivant:

### Essai 3.

Commencé le 4 mai 1905.

Matériel du même endroit que pour 1 et 2 et récolté le 11 mars 1905. Il est déposé sur:

1 et 2. Stachys recta, récolté à Chamblon près Yverdon
3. „ silvatica, Payerne
4. „ annua de graines récoltées en 1904

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Germination mauvaise en chambre humide.

Les pycnides apparaissent très irrégulièrement, probablement à cause de la mauvaise qualité du matériel. Stachys annua s'est comporté comme les deux Stachys recta, qui ont été assez abondamment infectés, et, fait très singulier, qui ne s'était pas produit l'année précédente, toutes avaient des téleutospores le 6 juin déjà.

Donc Stachys annua peut être plante hôtesse de Pucc. Stachydis, mais il n'y a rien d'étonnant qu'elle n'ait pas encore été signalée. Stachys annua étant annuelle, et vivant dans des terrains remués chaque année, ne sera pas volontiers atteinte pendant sa courte existence par cette rouille dont le pouvoir de dispersion paraît si faible.

Les pycnides, dont la description doit compléter celle de Pucc. Stachydis, sont jaunâtres, immerses, à soies grandes; col formant une protubérance assez remarquable.

En résumé: Pucc. Stachydis DC. est une Brachypuccinia. Outre Stachys recta, elle peut avoir encore Stachys annua comme plante hôtesse.

**Explication de la Planche.**

Fig. 1. Puccinia Brunellarum-Moliniae nov. spec., du Flühgraben. Gr. 110.

Fig. 2. Puccinia nemoralis Juel, de Falun (Suède). Gr. 110.

Fig. 3. Puccinia Moliniae (Tul.) Rostrup, du Danemark. Gr. 110.

*Nachdruck verboten.*

# Ein Thermostat für niedrige Temperatur.

Von Dr. **W. Kuntze,**

Assistent an der bakteriologischen Abteilung des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.

Mit 3 Abbildungen.

Wohl jeder Bakteriologe, welcher nicht in der Lage ist, über einen Arbeitsraum mit besonders gleichmäßiger Temperatur zu verfügen, hat die Erfahrung gemacht, daß das Wachstum der Bakterien auf Gelatine durch die unvermeidlichen Schwankungen der Zimmertemperatur in oftmals recht weitgehendem Maße beeinflußt wird. Wenn, wie es in den meisten modernen wissenschaftlichen Instituten der Fall ist, die Räumlichkeiten im Winter nicht durch Dauerbrandöfen, sondern vermittelst Dampfheizung erwärmt werden, so ergeben sich im Tageslaufe oft Differenzen von 12° C und mehr. Andererseits steigt im Sommer an besonders heißen Tagen die Zimmertemperatur oft so hoch, daß das Arbeiten mit Gelatine sehr erschwert wird. Endlich ist eine gleichmäßige Wärme, welche 20° nicht wesentlich übersteigt, auch für diagnostische Zwecke erwünscht, so beziehen sich die Wachstumsbilder, welche Lehmann und Neumann in ihrem Atlas für die auf Gelatine gezüchteten Bakterien bringen, fast durchweg auf eine Temperatur von 22°. Wohl führen sämtliche Werkstätten für bakteriologischen Bedarf auch Thermostaten für niedrigere als Zimmertemperatur, jedoch sind derartige Apparate in Anbetracht ihres Nutzraumes oft recht teuer. Die größeren Nummern, wie sie für landwirtschaftliche Laboratorien, wo viel Gärungsversuche an-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestellt werden, erforderlich sind, kosten in einfacher Ausstattung oft mehr als 1000 Mk.

Dies veranlaßte Dr. Löhnis und mich, einen Apparat zu ersinnen, welcher in seiner Konstruktion sich erheblich billiger stellt und auch den gestellten Anforderungen in recht befriedigender Weise genügt. Da

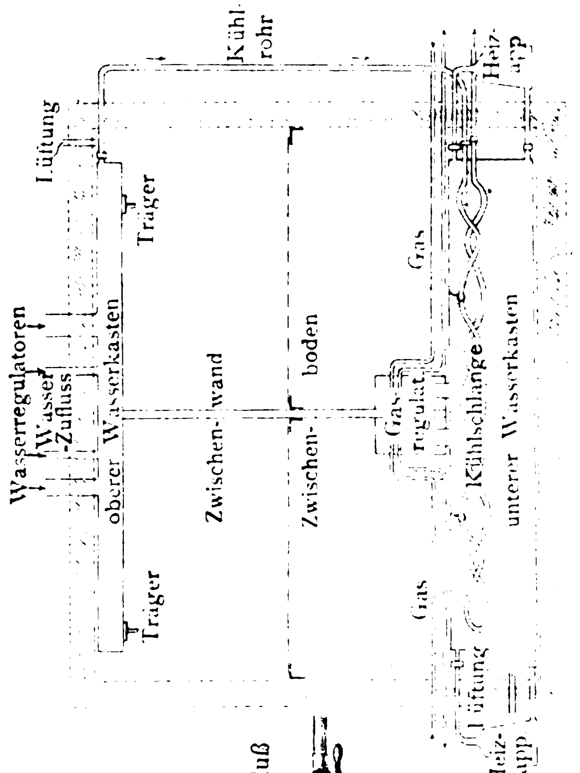



Fig. 2.

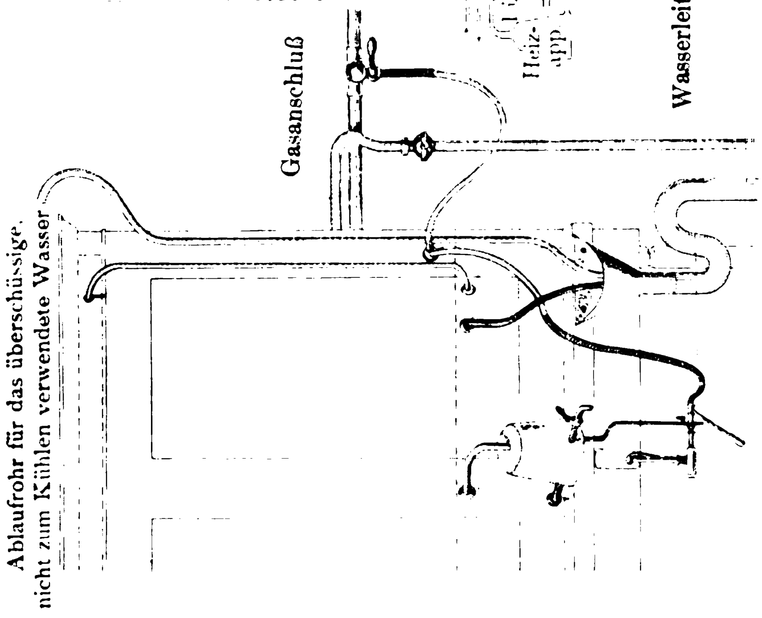



Fig. 1.

die Konstruktion eine von der bisher üblichen gänzlich abweichende ist, so soll im folgenden eine nähere Beschreibung derselben gegeben werden, wonach geschickte Tischler und Klempner in der Lage sind, einen derartigen Brutschrank anzufertigen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Apparat ist im Aeußeren nach Art eines Eisschrankes ausgeführt, er besteht aus doppelten Holzwänden, deren 3 cm betragender Zwischenraum allseitig mit Watte ausgekleidet ist. Die Größenverhältnisse sind: 1,10 m im Lichten breit, 0,85 m tief, 0,93 m hoch. Der Brutschrank ist mit einer äußeren, zweiflügeligen, verschließbaren Holztür mit Pasquillverschluß und einer inneren, zweiflügeligen Glastür mit Riegeln versehen. Alle Holzteile im Innern sind mit Zinkblech ausgeschlagen und sauber verlötet.

Die Temperatur wird durch zwei Wasserkästen erzeugt (vergl. Skizze), der untere dient zur Erwärmung, der obere erforderlichenfalls zur Kühlung. Durch geeignete Kommunikation und Einschaltung mehrerer Thermoregulatoren wird dafür gesorgt, daß sich die Temperatur, sowohl im oberen wie im unteren Wasserkasten, automatisch den Anforderungen entsprechend einstellt.

Zunächst wird der untere Wasserkasten (aus Zink No. 16, Dimensionen 1 m $\times$ 0,85 $\times$ 0,18, mit inneren Stützen für den oberen Boden und 2 zentralen Tuben zum Einsetzen der Gaszuflußregulatoren versehen, welcher mit destilliertem Wasser gefüllt ist, durch 2 kleine außerhalb des Schrankes beiderseits angebrachte Heizkessel aus Messing auf die erforderliche Temperatur (bei uns ca. 20°) gebracht. Die Wärmeregulierung erfolgt durch zwei von Zeiss-Jena bezogene Thermoregulatoren nach Haak, welche beide in den erwähnten Tuben befestigt in das Wasser hineinragen und einerseits mit der Gasleitung, andererseits mit den beiden Kochschen Sicherheitsbrennern verbunden sind. Die Gaszuflußregulatoren, welche sich im Innern des Schrankes befinden, sind an den Verbindungsstellen gut mit gasdichtem Kitt abzudichten, sie werden zum Zwecke besseren Schutzes durch eine leicht abnehmbare Blechkappe verdeckt. Die übrigen sämtlich Wasser führenden Rohre sind mit den außerhalb des Schrankes gelegenen Teilen durch Schraubengewinde verbunden, so daß etwa notwendige Reparaturen leicht ohne Auseinandernehmen des Schrankes zu bewerkstelligen sind.

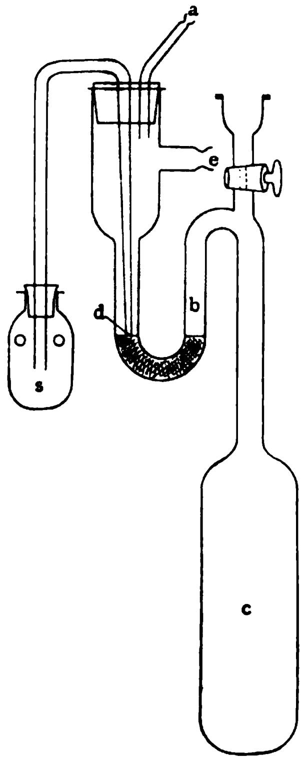


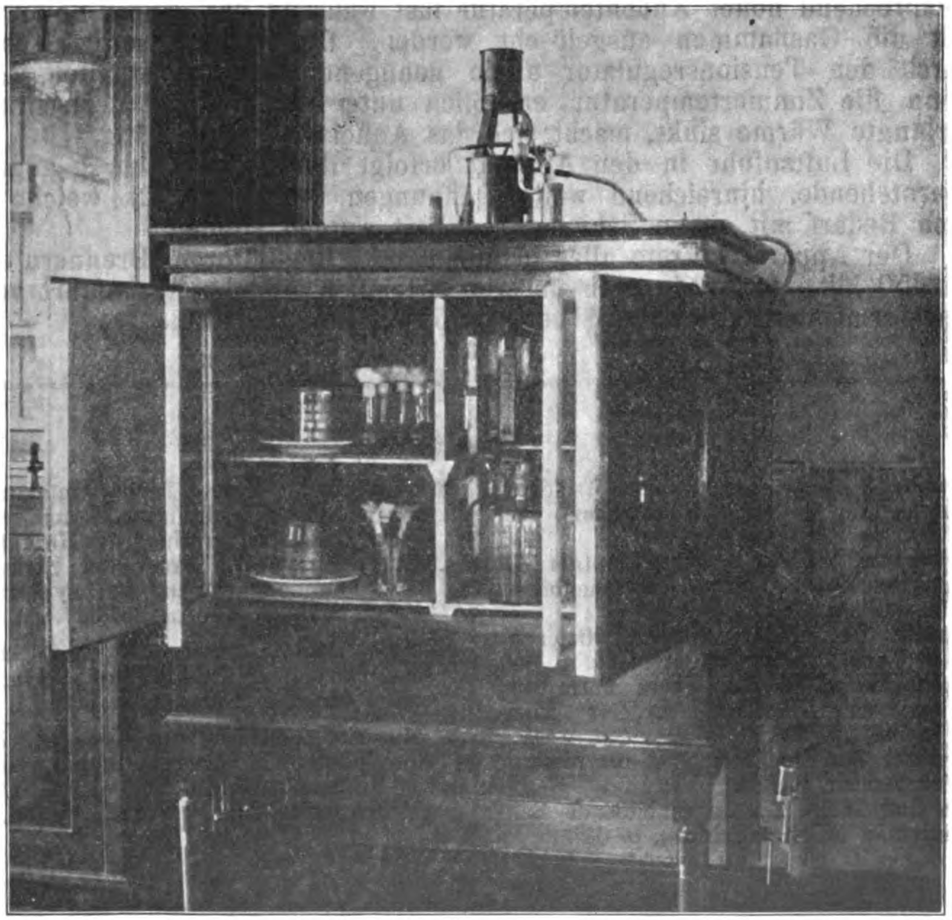
Fig. 3.

Der obere Wasserbehälter, welcher zur Aufnahme des von der Wasserleitung zugeführten Kühlwassers dient, entspricht in seiner Länge und Breite dem unteren Warmwasserkasten, ist aber nur 5 cm hoch, um eine schnellere Zirkulation zu ermöglichen. Die Regulierung der Temperatur im oberen Behälter erfolgt durch einen Rohrbeckschen Aetherdampftensionsregulator für Kaltwasserzufluß. Letzterer (vergl. Fig. 3) beruht auf dem Prinzip, daß bei zunehmender Erwärmung Aetherdämpfe in *c* sich ausdehnen und auf eine in U-förmiger Röhre lagernde Quecksilbersäule *b*, *d* drücken, wodurch der ständig laufende Kühlwasserstrom eingeschaltet wird, demzufolge kaltes Wasser durch *e* so lange in den oberen Wasserkasten eintritt, bis die Temperatur wieder auf die eingestellte Marke

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sinkt; allmählich kondensiert sich nun der Aetherdampf, das Quecksilber tritt wieder zurück und so wird die Verbindung mit dem Inneren wieder ausgeschaltet, die Oeffnung *d* wird frei, das Kühlwasser wird nun außerhalb des Brutschrankes durch den Becherheber *s* in einem anderen Rohrsystem zum Rinnstein abgeleitet.

Um den Wasserzufluß von den Druckschwankungen der Wasserleitung unabhängig zu machen, hat das Kühlwasser, bevor es in den Regulator eintritt, erst einen kleinen Zuflußregler auf Dreifuß (vergl. Gesamtansicht) zu passieren; das Wasser strömt am Boden des Gefäßes ein und verläßt dasselbe durch ein in bestimmter Höhe angebrachtes Ablaufrohr,



Gesamtansicht.

welches direkt mit dem Extensionsregulator verbunden ist. Durch eine dritte, etwas höher angebrachte Oeffnung im Wasserzuflußregler wird es möglich, das Kühlwasser schneller fließen zu lassen bezw. einen größeren Ueberschuß abzuleiten, um immer möglichst kaltes Wasser für den Brutapparat zur Verfügung zu haben. Das unterhalb des Wasserzuflußreglers angebrachte weitere Blechgefäß dient zum Auffangen des überschüssigen Wassers, auch des nicht zur Kühlung benutzten, welches aus dem Tensionsregulator abfließt und durch den Becherheber abgesogen wird.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um nun die Temperatur auch im unteren Wasserreservoir, sobald es nötig wird, möglichst schnell erniedrigen zu können, geht von dem oberen Wasserkasten ein Kühlrohr durch das untere Wärmebassin hindurch. Sobald die Quecksilbersäule den Zufluß des Kühlwassers in den Apparat einschaltet, wird aus dem oberen Bassin Kühlwasser verdrängt, dasselbe gibt also seine Kälte vor dem Austritt in den Ausguß erst an das Warmwasserbassin ab.

Diese Konstruktion hat sich in unserem Laboratorium im Winter wie im heißen Sommer durchaus bewährt; wenn die Regulatoren einmal richtig eingestellt sind, schwankt die Temperatur innerhalb des Brutschrankes während 24 Stunden nur selten um 1 Grad.

Da die Wasserregulierung ziemlich schnell erfolgt, so können bei entsprechend hoher Außentemperatur fast während der ganzen Sommerzeit die Gasflammen ausgelöscht werden. Die Wärme wird alsdann durch den Tensionsregulator allein genügend konstant erhalten, erst wenn die Zimmertemperatur erheblich unter die für den Brutschrank verlangte Wärme sinkt, macht sich das Anheizen wieder nötig.

Die Luftzufuhr in den Apparat erfolgt durch je 5 schräg gegenüberstehende, hinreichend weite Oeffnungen (vergl. Fig. 2), welche je nach Bedarf mit einem Schieber reguliert werden können.

Der Apparat kostete alles in allem, inkl. Regulatoren, Brennern etc. ca. 450 Mk., er wurde nach unserer speziellen Angabe ausgeführt vom Tischlermeister Georg Müller, Leipzig, Alexanderstraße 11.

## Inhalt.

**Cruchet, Paul**, Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées. (Fin), p. 674.
**Fuhrmann, Franz**, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Schluß), p. 615.
**Gruber, Th.**, Beitrag zur Identifizierung des Bacillus mesentericus ruber, p. 644.
**Hutchinson, H. B.**, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Schluß), p. 593.
**Kuntze, W.**, Ein Thermostat für niedrige Temperatur, p. 684.
**van der Leck, L.**, Aromabildende Bakterien in Milch. (Schluß), p. 647.
**Müller, Leo**, Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft, nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken. (Forts.), p. 627.
**Remy, Th.**, Deutsche Nitragin- und amerikanische Nitrokulturen als Impfmittel für Hülsenfrüchte, p. 660.
**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Forts.), p. 604.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 22|24.

*Nachdruck verboten.*

# Pseudovakuolen in Hefezellen.

Von **J. J. van Hest.**

**Mit 2 Tafeln.**

In dieser Zeitschrift, 1906, p. 8, schrieb ich über obenstehenden Gegenstand einen Artikel, dem ich noch folgendes beifügen will. Nicht vollkommen zufrieden mit den angeführten Beweisen, nahm ich noch die photographische Platte zu Hilfe, um zu versuchen, ob ich dadurch im stande sei, dasjenige genau auf das Bild zu bringen, was ich mit dem Auge an den Hefezellen wahrgenommen hatte. Obgleich nun die erhaltenen Photogramme befriedigend genannt werden können, ist der Zweck doch nicht vollkommen erreicht worden, da zum genauen Anbringen des auffallenden Lichtes der Lichtquelle so viel Licht verloren geht, daß nicht genug übrig bleibt, um das Bild auf der photographischen Platte genügend zu beleuchten. Ich konnte deshalb die äußerste Grenze der Oberflächenbeleuchtung nicht erreichen und mußte mich mit dem Mittelweg zufrieden stellen. Die hier beigefügten Photogramme sind jedoch noch derartig, daß sie genügend ausweisen, was ich unter Pseudovakuolen oder Abplattungen verstehe, und können daher auch von Nutzen sein, um Mißverständnissen über diesen Punkt vorzubeugen.

Die Figuren 1, 3, 5, 7 und 12 sind mit durchfallendem Licht und die Figuren 2, 4, 6, 8, 11, 13, 14, 15 und 16 mit auffallendem Licht photographiert; Fig. 7 ist dicht an der Grenze von Dunkelfeldbeleuchtung und bei Fig. 14 ist das auffallende Licht genauer als bei Fig. 13 gewesen. Beide Hefen [1]) sind aus einer Würzekultur genommen.

Die Figuren 1 und 2 sind Hefen aus einem Reinkulturapparat der 5. Generation; die Figuren 3 und 4 sind Hefen aus einer Praxis-Anstellhefe 2. Generation; Figg. 11 und 12 sind Hefen aus einem Reinkulturapparat der 10. Generation, welche auf Gipsblöckchen geimpft und nach 3-tägigem Stehen bei 24° C photographiert wurden. In beiden Figuren sehen wir Sporen und Zellen mit Pseudovakuolen. Die Figuren 5, 6, 7, 8 und 9 sind Hefen aus einem Reinkulturapparat 11. Generation und Fig. 15 ist dieselbe Hefe 13. Generation. In den Figuren 9 und 10 ist der Versuch gemacht, einige Hefezellen auf dem Deckglase zu fixieren und dann zu färben, um dadurch einige Zellen mit Pseudovakuolen von der Seite sehen zu können. Fig. 9 ist mit Anilinwasserfuchsin und Fig. 10 mit Loefflerschem Methylenblau gefärbt. Das Resultat ist nicht glänzend gewesen, aber was ich bekommen habe, ist hier beigefügt. Fig. 16 ist Kartoffelstärke; dieselbe habe ich hinzugenommen, um zu zeigen, wie weniger durchscheinende Objekte als Hefezellen auch auf diese Weise photographiert werden können. Die photographierte Hefe ist also von derselben Hefesorte und wechselt zwischen der 5. und 13. Generation. In den Figuren 1 und 2 sieht man dieselben Zellen, die Figuren 3 und 4 sind von dem-

1) Prof. P. Lindner war so liebenswürdig, mir eine Reinkultur von dieser Hefe zu senden.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben mikroskopischen Präparate, aber nicht dieselben Zellen; die Figuren 5, 6, 7 und 8 sind Abbildungen aus ein und demselben mikroskopischen Präparate und in den Figuren 6, 7 und 8 sind auch die gleichen Zellen. Es ist also ersichtlich, daß stets danach gestrebt worden ist, eine kleine Anzahl Zellen stark vergrößert zu photographieren, um dadurch Gelegenheit zu bekommen, jede Hefezelle für sich selbst zu betrachten. Wie ich schon oben sagte, gab das photographische Bild nicht alles das wieder, was man mit dem Auge im mikroskopischen Gesichtsfelde beobachten kann, jedoch glaube ich, daß es deutlich erkennen läßt, daß die sogenannten Vakuolen keine solche sind und vor allem nicht, wenn man annimmt, daß eine Vakuole eine Wand besitzt. Es gibt Vakuolen, welche beinahe so groß sind als die Hefezelle selbst, und in solchen Fällen würde die Vakuolenwand äußerst groß und daher unglaublich dehnbar sein müssen. Nehmen wir nun einen Augenblick an, daß die Vakuole ein Tonoplast, eine Wand oder Haut hat, dann würden die Vakuolen auch viel Uebereinstimmung mit Sporen in den Hefezellen haben, und dadurch, was Lichtbrechung und Schattenbildform betrifft, miteinander vergleichbar sein. Eine Sporen enthaltende Hefezelle zeigt jedoch ein ganz anderes Bild als eine vakuolisierte Zelle, wie solches in den Figuren 11 und 12 deutlich zu sehen ist. In den Figuren 11 und 12 sieht man bei *I* eine Hefezelle mit 3 Sporen und bei *II* eine solche mit einer Vakuole. Die Bilder sind unter sich verschieden, weil Fig. 11 mit durch- und Fig. 12 mit auffallendem Lichte photographiert sind, und doch geben in beiden Fällen die Vakuolen ganz andere Bilder als die Sporen, während dieser Unterschied, wenn die Vakuolen auch Zellen in einer Zelle wären, nicht so groß sein könnte. Ferner sind die Sporen in den Hefezellen immer ungefähr gleichgroß — man muß hier berücksichtigen, daß die 3 Sporen nicht in einer Fläche liegen; die dritte liegt meistens etwas tiefer und teils unter den Rändern der 2 anderen Sporen, wodurch sie etwas kleiner scheint — während die Größe der Vakuolen enorm verschieden ist. Was den Umfang der Sporen betrifft, so ist dieser doch, mit welcher Beleuchtung auch gesehen, immer beinahe kugelrund. Wenn man Sporen enthaltende Hefezellen durch das mikroskopische Gesichtsfeld rollen läßt, dann sieht man stets 3 Zellen in einer Zelle, und zwar sieht man dies immer, in welcher Richtung auch die Zelle dreht oder rollt oder mit welcher Seite auch die Zelle nach oben liegt; immer wieder sieht man 3 kugelrunde Zellen, welche durch die Zellwand der alten Hefezelle beieinander gehalten werden. Zerreißt man diese Zellwand durch die eine oder andere Ursache, dann treten die Sporen nach außen und sehen aus wie selbständige kugelrunde Zellen. Diese Tatsache, daß wir die Sporen außerhalb der Hefezelle als selbständige Individuen sehen können, ist ein schlagender Beweis dafür, daß die ringförmigen Schattenbilder in den Sporen enthaltenden Hefezellen, welche wir bei der mikroskopischen Untersuchung beobachten, wirklich von e i n e m s t o f f l i c h e n O b j e k t e herrühren. Könnten wir einen solchen Beweis von dem Bestehen der Vakuolen liefern, dann würden alle Zweifel gehoben sein. Macht man jedoch die Zellwand einer eine Pseudovakuole enthaltenden Hefezelle auf, dann tritt der Zellinhalt als zusammenhängendes Protoplasma oder als kleine Körnchen (Fig. 15) heraus, die Pseudovakuole dagegen kommt nicht mit hinaus, sondern wird größer im Verhältnis als die Hefezelle leerer wird, bis ihr Umfang endlich so groß geworden ist wie der der leeren Zellhaut, und verschwindet dann auf einmal vor unserem Auge. Dies kann also kein stoffliches Objekt gewesen sein und das

Digitized by Google · Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verschwinden kann meines Erachtens nur auf die folgende Weise erklärt werden: Der Rand der Pseudovakuole wird durch die Falte der Zellhaut gebildet; verringert sich der Zellinhalt, dann fällt die Zellhaut mehr ein, die Falte wird größer, und dies geht so fort, bis sie endlich die Falte der leeren Zellhaut erreicht hat. sich dann mit derselben vereinigt oder zusammenfließt, auf diese Weise zu bestehen aufhört und vor unserem Auge verschwindet.

Fig. 15 ist eine Abbildung von eingetrockneter Hefe, welche dadurch erhalten ist, daß man die Hefekolonieen auf einer Malzgelatineplatte ungefähr 14 Tage bei gewöhnlicher Zimmertemperatur austrocknen ließ.

In einer der Zellen ist noch deutlich sichtbar, wie die Zellwand durch viele Körner hochgehalten wird und zwischen den Körnern eingefallen ist; andere Zellen haben ihren körnigen Inhalt ganz oder teilweise ausgeworfen, wonach die ersteren als plattliegende Säckchen zurückgeblieben sind. Die ausgestoßenen Körnchen, welche durch das Mikroskop noch deutlich zu beobachten waren, sind durch ihre stark zitternde Bewegung, die eine Momentaufnahme notwendig machten, in der Abbildung weniger deutlich geworden.

Ferner weisen die Photogramme deutlich die große Unregelmäßigkeit der Umfänge der Pseudovakuolen zugleich mit ihrer willkürlichen Lage in den Zellen an. Sie liegen oftmals ungefähr in der Mitte der Zelle, manchmal aber auch auf einem willkürlichen Platze am Rande der Zelle (vergl. Figg. 6 u. 8). In Fig. 4 findet man eine Zelle mit 2 Pseudovakuolen und in den Figg. 13 und 14 hat jede Zelle verschiedene Pseudovakuolen.

Weiter sind Hefen mit einem hohen und solche mit einem niederen Prozentsatz an Pseudovakuolen gewählt. In der Brauereipraxis ist der Gehalt an Pseudovakuolen enthaltenden Zellen in der Oberhefe sehr wechselnd und variiert zwischen 5 und 95 Proz.; er ist selten stationär, ist vielmehr fortwährend steigend oder fallend. Im allgemeinen ist der Prozentsatz in kräftiger, gut arbeitender Hefe niedrig, in weniger guter, für die Praxis schlechter Hefe dagegen hoch. Hiermit soll aber nicht gesagt sein, daß durch den Gebrauch einer Hefe mit hohem Prozentsatz an Pseudovakuolen kein gutes Bier resultieren kann, ebensowenig als daß es nicht zahlreiche andere Ursachen und Erscheinungen gibt, welche auf die Qualität der Bierhefe von Einfluß sind. Doch ist es immerhin anzuraten, eine Hefe mit hohem Prozentsatz an Pseudovakuolen gut im Auge zu behalten und oftmals zu kontrollieren, denn es kommt mir vor, daß es eine ökonomische Erscheinung ist, welche oft, wenn auch nicht immer, unter normalen Verhältnissen in der Brauereipraxis durch die Hefe selbst besiegt wird.

In den Figuren 5, 6, 7, 8 und 11 sieht man in den Pseudovakuolen kleine Körnchen liegen, welche manchmal nicht scharf abgebildet sind und daher verschwommen aussehen: Diese Körnchen bewegen sich meistens sehr stark, und ist es deshalb sehr schwer, sie richtig zu photographieren. Welche Bedeutung diese Körnchen für das Leben der Bierhefezellen haben, liegt vielleicht noch im Dunkeln. Der Zellinhalt der Bierhefezellen enthält viele lichtbrechende Stoffe, und ist es deshalb nicht leicht, das Entstehen und die Funktionen dieser Körnchen zu verfolgen.

In der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen, 1903, p. 808, beschrieb ich zwei Sproßpilze, Torula meloda und enerva, die ich in verdorbenen holländischen, englischen und deutschen Bieren fand, welche



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besser für diesen Zweck brauchbar sind. Bei den jugendlichen Zellen aus einer Würzekultur ist der Zellinhalt homogen, sehr durchscheinend, blaß und besitzt so wenig Strukturbilder, daß die Zellen z. B. äußerst schwer zu photographieren sind. In diesem Zustande ist die Zellhaut straff gespannt, die Sprossung ist allgemein und die Mutterzellen erzeugen ovale oder runde Zellen. Beschaut man aber diese Zellen bei stärkerer Vergrößerung und zweckmäßiger Beleuchtung, dann sieht man irgendwo in der Mutter- und in den Tochterzellen ein Körnchen oder vielleicht ein Körnchenhäufchen liegen, das an keinen bestimmten Platz gebunden scheint, aber in verschiedenen Zellen auch an verschiedenen Stellen liegt und ohne Bewegung ist. Nach 1—5 Tagen kommen die Körnchen nach oben und legen sich kurze Zeit fest gegen die obere Wand der Zellen an. Etwas später beginnen sie allmählich zu zittern; diese Bewegung wird immer schneller und geht nach ganz kurzer Zeit in eine zirkelrunde über. Zu gleicher Zeit sieht man aber auch, daß durch das Zittern die Zellhaut gerade über dem Körnchen etwas einfällt oder abgeplattet ist. Wird die Bewegung mehr zirkelrund, dann ist auch die Abplattung mehr zirkelrund geworden, und so folgt die Abplattung der Bewegung oder dem Wege des Körnchens. Offenbar zerstört das Körnchen den oberen Teil des Zellinhaltes und weil die Zellhaut jetzt ohne Stütze ist, fällt sie ein. Ob diese Körnchen sich mit der Trockensubstanz des Zellinhaltes nähren und dadurch den oberen Rand des Skeletts fortnehmen oder ob dieses mechanisch plattgedrückt wird, ist natürlich noch schwer zu beweisen. Uebrigens ist es sehr natürlich, daß der lebende Zellkern seinen aufgespeicherten Vorrat an Nährstoffen aufzehrt, wenn die Anfuhr von Nährstoffen von außen aufgehört hat. Das ist auch ganz im Einklange mit der Erfahrung, daß Hefe in frischer Würze — also nach guter Anfuhr von Nahrung von außen — sehr wenig Pseudovakuolen, und Hefe, welche sich in schlechtem Nährboden befindet, sehr viele Pseudovakuolen hat; auch mit der Tatsache, daß die Körnchen im Laufe einiger Tage größer werden. Das Körnchen bleibt aber nicht lange allein; nach kurzer Zeit kommen 3, 4—12 Körnchen dazu und nun fängt die Bewegung erst recht an. Es ist ein Hin- und Herbewegen, Zittern und Tanzen ohne Ende. Man sieht zwei Körnchen sich vereinigen und nach kurzer Zeit wieder loslassen; dann vereinigen sich alle zusammen, um nach einiger Zeit wieder getrennt zu werden, bis sie sich zum Schlusse wieder vereinigen, um vorerst nicht mehr voneinander zu gehen. Sie wachsen nun scheinbar zu einem neuen Körper zusammen und haben meistens die Form einer rundlichen Kugel, von denen bisweilen zwei aneinanderliegen.

In einigen ovalen oder runden Zellen tritt dieser Vorgang an zwei verschiedenen Stellen auf, wodurch zwei Abplattungen in einer Zelle formiert werden, welche natürlich jede für sich kleiner bleiben, als wenn nur eine Abplattung formiert wäre. In diesem Falle muß das eine Körnchen oder Körnchenhäufchen in der jungen Zelle sich geteilt haben oder es waren schon zwei Körnchen in der Zelle gewesen, wovon das eine unsichtbar war. In solchen Zellen nun, die zwei Körnchen resp. zwei Abplattungen haben, wird nach einiger Zeit in der Mitte der Zelle eine Scheidewand sichtbar; die Zellhaut biegt nach innen und endlich entstehen durch Abschnürung zwei selbständige Zellen, welche beide von gleicher Größe sind. In gestreckten Zellen ist das Auftreten von zwei Körnchen an zwei verschiedenen Stellen beinahe Regel und das Auftreten von einer Scheidewand und späterer Abschnürung ungefähr gleich wie bei den oben beschriebenen ovalen oder runden Zellen.

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erscheinen in einer gestreckten Zelle die Körnchen nur an einer Stelle, dann bleiben sie am Schlusse an einem Ende der Zelle liegen. Dieses Ende schwillt etwas auf und das andere Ende schrumpft etwas zusammen, wodurch die Zelle die Form eines Trommelschlägers bekommt. In dessen Kopf entwickelt sich eine Zelle, welche eine dicke Membran besitzt und vielleicht die Sporenform dieser Sproßpilze ist. Es ist nun meines Erachtens deutlich, daß die genannten Körnchen unbedingt für die Erzeugung neuer Zellen nötig sind.

Bei gewöhnlicher Sprossung der Hefezellen — d. h. bei reichlicher Nahrung und Luft — sieht man in der Mutterzelle ein kleines Körnchen selbständig auftreten; es legt sich bei runden Zellen meistens auf einer willkürliche Stelle gegen die Wand der Zellhaut an und es wird eine neue Zelle formiert, wohin das junge Wesen (Körnchen) übergeht, um selbst zu leben und später neues Leben zu erzeugen. Erscheinen zwei Körnchen auf zwei verschiedenen Stellen in einer ovalen oder gestreckten Zelle, dann werden zwei Zellen gebildet; erscheint in einer Mutterzelle kein Körnchen, dann stirbt sie ab, ohne einen neuen Sprößling zu hinterlassen. Ich komme hierdurch zu der Meinung:

1) daß diese Körnchen die Kerne dieser Sproßpilze sind;

2) daß diese Kerne die direkte Ursache für die Formung der Abplattungen oder Pseudovakuolen sind;

3) daß die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, daß der Zellkern seinen Nahrungsvorrat verbraucht, wenn die Nahrungszufuhr von außen aufhört.

---

*Nachdruck verboten.*

# Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.

## III. Mitteilung.

Von **H. Will.**

Mit 14 Figuren und 3 Tafeln.

(Schluß.)

### Findet in gehopfter Bierwürze alkoholische Gärung statt?

Von praktischen Gesichtspunkten ausgehend, wurde auch untersucht, ob die vorliegenden Organismen in gehopfter Bierwürze alkoholische Gärung hervorzurufen vermögen. Bei früher durchgeführten Versuchen, über welche in der I. Mitteilung berichtet wurde, zeigte No. 5 immer mehr oder minder starke Gärungserscheinungen und es wurde schon die Gegenwart von Alkohol nachgewiesen. Auch bei den Arten No. 2 und 16 konnte gelegentlich die Bildung von Gasblasen unterhalb der Haut auf Kulturen beobachtet werden.

Die Versuche wurden mit einer Würze von 14,1 Proz. B. durchgeführt. Man verteilte sie in Mengen von 200 ccm auf größere, mit Wattepfropfen verschlossene Erlenmeyer-Kolben und sterilisierte sie $1/2$ Stunde lang im Dampftopf. Nachdem die Kolben mehrere Tage zwecks Lüftung gestanden, erhielten sie je zwei Platinösen der bei 25 ° C in gehopfter Würze wie gewöhnlich herangezüchteten und vorbereiteten

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einsaat, die sich nach der mikroskopischen Untersuchung in sehr guter Verfassung befand. Die Kulturen blieben im Laboratorium stehen.

Die erste Versuchsreihe wurde nach 4 Tagen abgebrochen und in dem Destillat von etwa 30 ccm die Jodoformreaktion angestellt. Diese war nur bei der Art No. 2, welche auch Gärungserscheinungen gezeigt hatte, deutlich. Auffälligerweise machten sich bei No. 5 äußerlich keine Gärungserscheinungen bemerkbar und gab auch das Destillat keine Reaktion auf Alkohol. Ein wiederholter Versuch mit No. 5 in der gleichen Würze ließ jedoch nach 2 Tagen Gärungserscheinungen auftreten, die bis zum 3. Tage andauerten. Sehr deutlich war die Gasentwickelung beim Umschütteln.

Die zweite Versuchsreihe wurde nach 14 Tagen zum Abschluß gebracht. Gärungserscheinungen traten hier bei No. 2 und 16 am 4., bei No. 5 am 3. Tage auf und dauerten bei No. 2 und 5 mehrere Tage hindurch an. Die Schaumbildung war in allen Fällen nur eine verhältnismäßig geringe, in keinem Falle eine so lebhafte wie selbst bei den weniger gärkräftigen Saccharomyceten. Sie beschränkte sich immer auf einzelne größere, großblasige Schauminseln, die bei No. 2 und 16 von der Haut überzogen waren.

Die gebildete Alkoholmenge wurde (pyknometrisch) nur bei den Kulturen, welche Gärungserscheinungen gezeigt hatten, bestimmt, und betrug diese bei No. 2 = 1,2 Proz., bei No. 5 = 0,86 Proz. und bei No. 16 = 1,14 Proz., also verhältnismäßig recht beträchtliche Mengen.

Bei No. 1 und 10 war in dem Destillat die Jodoformreaktion auffallend, bei den übrigen Arten nur schwach.

Die Alkoholbestimmung (pyknometrisch) im Destillat der nach einem Monate abgeschlossenen Versuchsreihe ergab folgende Zahlen:

| Erste Gruppe: | Zweite Gruppe: | Dritte Gruppe: |
|---|---|---|
| No. 3 = 0,40 Proz. | No. 1 = 0,64 Proz. | No. 12 = 0,41 Proz. |
| „ 4 = 0,30 „ | „ 9 = 0,85 „ | |
| „ 6 = 0,13 „ | „ 10 = 0,78 „ | |
| „ 17 = 0,29 „ | „ 2 = 0,99 „ | |
| „ 11 = 0,10 „ | „ 15 = 0,07 „ | |
| „ 5 = 0,92 „ | „ 16 = 1,09 „ | |
| „ 7 = 0,10 „ | | |
| „ 8 = 0,13 „ | | |

Da die meisten der vorliegenden Organismen nach den im vorhergehenden Abschnitte mitgeteilten Versuchen Maltose überhaupt nicht, von den übrigen Zuckern die Mehrzahl nur sehr langsam vergären, so sind die nachgewiesenen, in der gehopften Würze erzeugten Alkoholmengen auf die übrigen in der Würze vorhandenen Zuckerarten (Rohrzucker, Dextrose und Lävulose), in erster Linie wohl auf die Dextrose und Lävulose, welche die meisten Arten gut vergären, zurückzuführen.

Bei einzelnen Arten, wie bei No. 2, 5 und 16, mit äußerlich sichtbaren Gärungserscheinungen verläuft die Gärung sehr rasch und wird offenbar die Hauptmenge des Alkohols schon innerhalb der ersten Tage gebildet. Anscheinend noch verhältnismäßig rasch, jedoch nicht mehr in dem Maße, wie die oben genannten Arten, vergären No. 1 und 10, mit höherem Alkoholgehalt der vergorenen Würze. Die übrigen Arten sind überhaupt nur schwache Gärungserreger oder sie gären wie No. 9 mit ebenfalls noch höherem Alkoholgehalt sehr langsam.

Betrachten wir die einzelnen Gruppen, so finden wir in der ersten auch bei den Arten No. 6, 11, 7 und 8, welche bei der Prüfung ihres Verhaltens gegenüber den verschiedenen Zuckerarten keine Kohlensäure-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entwickelung erkennen ließen, einen, wenn auch nur geringen, Alkoholgehalt. Das weist aber darauf hin, daß der Kleingärmethode bei den vorliegenden, sehr schwach gärenden Organismen nur der Wert eines orientierenden Versuches zuerkannt werden kann.

Bemerkenswert ist, daß von den Torula-Arten No. 3 + 4, sowie No. 17, obwohl sie sich wesentlich an der Flüssigkeitsoberfläche entwickeln, noch größere Alkoholmengen gebildet worden sind.

Auch aus dem vorliegenden Versuche ergibt sich, daß die Art No. 5 in physiologischer Hinsicht der zweiten Gruppe näher steht als der ersten.

Die Organismen der zweiten Gruppe sind gegenüber denjenigen der ersten Gruppe fast durchgehends stärkere Gärungserreger, und es wurde hier die größte, überhaupt erzeugte Alkoholmenge mit 1,2 Proz. festgestellt. Ausgenommen ist die Art No. 15, bei welcher überhaupt die geringste Alkoholmenge gefunden wurde. Auch bei den Organismen dieser Gruppe entsteht, wie bei den oben angeführten Torula-Arten, sehr rasch eine Oberflächenvegetation. Diese Art der Entwickelung kann also nicht für das geringere Gärvermögen als Erklärung herbeigezogen werden, um so weniger, als zu den stärksten Gärungserregern nicht nur No. 5 gehört, bei welcher eine Haut nur sehr schwer zustandekommt, sondern auch No. 2 und 16, welche sehr starke Häute in kurzer Zeit bilden.

Der Organismus No. 12 der dritten Gruppe, ebenfalls mit sehr starker Hautbildung, schließt sich hinsichtlich der erzeugten Alkoholmenge der Torula-Art No. 3 + 4 an.

## Glykogenbildung.

Zahlreiche gelegentliche Beobachtungen an Kulturen in Würze, neutralem Hefezuckerwasser und anderen Nährflüssigkeiten ergaben, daß die Glykogenreaktion an den Zellen der vorliegenden Organismen je nach der Art verschieden war. Die Beobachtungen stimmten bei nahezu gleichalterigen Kulturen im allgemeinen überein. Variationen machten sich bei verschiedenem Alter und nach den Temperaturen, bei welchen die Kulturen gestanden, u. s. w. geltend.

Die zur Reaktion verwendete Jodlösung hatte folgende Zusammensetzung: 30 g Jodkalium, in 60 ccm destilliertem Wasser gelöst, und 1 g Jod hinzugefügt.

Wie in anderen Fällen, tritt auch hier bei den Oberflächenvegetationen die Jodlösung nur sehr langsam in die geschlossenen Hautstückchen, welche einen festen inneren Zusammenhang besitzen, vielleicht infolge einer Verschleimung oder einer anderen besonderen Beschaffenheit, ein. Es dauert oft sehr lange, bis selbst eine intensivere Gelbfärbung des Zellinhaltes erfolgt. Daher muß jedenfalls länger zugewartet werden, bis ein endgültiges Urteil über die Reaktion gewonnen werden kann. In der Regel wurde sie in der Weise ausgeführt, daß zunächst 1 oder 2 Platinösen der betreffenden Organismen aus den Kulturen in einen Tropfen der Jodlösung auf dem Objektträger verteilt wurden. Nach dem Auflegen des Deckglases ließ man dann noch einen Tropfen der Jodlösung seitlich vom Rande des Deckglases her zufließen.

Ein systematischer Versuch sollte darüber Aufschluß geben, ob tatsächlich die Glykogenanhäufung bei den vorliegenden Organismen eine verschiedene ist. Die mangelnde Fähigkeit bezw. die stärkere oder minder starke Glykogenbildung unter den gleichen Kulturbedingungen könnte ein diagnostisches Merkmal abgeben.

In zwei bei 25° C durchgeführten Versuchsreihen wurde einmal ge-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hopfte Bierwürze von 11,5 Proz. B. und ferner das zu allen übrigen Versuchen verwendete neutrale Hefewasser mit einem Zusatz von 6 Proz. Rohrzucker als Kulturflüssigkeit benutzt. Mit jedem Organismus wurden gleichzeitig 4 Freudenreich-Kölbchen (mit 10 ccm Flüssigkeit) geimpft.

Da von möglichst glykogenfreien Zellen ausgegangen werden sollte, so impfte man die Kölbchen aus 3 Wochen alten Würzekulturen, nachdem man sie genau auf ihren Glykogengehalt geprüft hatte. Von dem Impfmaterial für die Bierwürze war nur No. 1, 2, 3 + 4, 6, 9 und 10 völlig oder nahezu frei von Glykogen, No. 7 und 8 enthielten solches nur in sehr geringer bis mäßiger Menge, und zwar bei der letzten Art nur in vereinzelten Zellen. Von den übrigen Arten enthielten sehr viele Zellen von No. 5, 11, 12 und 16 Glykogen in sehr verschiedener Menge bis zu ziemlich intensiver Reaktion, von No. 15 und 17 nur einzelne Zellen.

Aehnlich verhielt sich das Impfmaterial für das Hefezuckerwasser; hier waren die Zellen von No. 12, 15 und 17 völlig frei von Glykogen, von No. 11 nahezu frei und bei No. 16 die Reaktion sehr schwach.

Die Kulturen der beiden Versuchsreihen wurden jeden Tag untersucht, und zwar getrennt Proben von der Haut bezw. dem Ring und dem Bodensatz. Die Entnahme von Proben aus dem Bodensatz geschah mittels Kapillarröhren. Die Versuchsdauer betrug bis zu 5 Tagen.

Das Ergebnis der beiden Versuchsreihen ist im folgenden zusammengestellt.

(Siehe Tabelle I und II p. 697 und 698.)

Im allgemeinen ist also der Glykogengehalt unter den gegebenen Bedingungen bei den Kulturen in neutralem Hefewasser größer als bei denjenigen in Würze. Am intensivsten war die Reaktion in beiden Fällen in den Zellen von No. 5, welches ja auch noch Gärungserscheinungen zeigt. Ebenfalls sehr intensiv, wenn auch nicht mehr in dem Maße wie bei No. 5, trat die charakteristische rotbraune Färbung mit der Jodlösung bei der Art No. 2 ein, welche, wie ausgeführt, noch zu den Organismen mit verhältnismäßig stärkerem Gärvermögen gehört. Die Art No. 16, welche in gehopfter Würze die größte Alkoholmenge geliefert hatte, gab in der vorliegenden Versuchsreihe nur im Hefezuckerwasser stärkere Glykogenreaktion, stand jedoch gleichwohl in dieser Hinsicht den Arten No. 12 und 15 nach, von welchen die letzte die geringste Alkoholmenge erzeugt hatte. Dagegen trat eine Reaktion bei den schwachen Gärungserregern No. 6, 7, 8 und 11 auf, und zwar bei den 3 letzten teilweise ziemlich intensiv, wenn auch nur in einzelnen Zellen.

Die Arten, welche sich sehr rasch in Form von Oberflächenvegetationen entwickeln, wie No. 3 + 4, 15, 11 und 17 sind ebensowenig frei von Glykogen wie Mycoderma.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen hinsichtlich des Glykogenhaltes besteht nicht, er zeigt sich bei allen in verschiedenen Abstufungen. Beachtenswert dürfte vielleicht nur sein, daß von den Organismen der zweiten Gruppe die den Torula-Arten im Sinne von Hansen nahestehenden Arten No. 9 und 10 unter den gegebenen Bedingungen keine Glykogenreaktion gaben, während sie bei den typischen Torula-Arten in keinem Falle fehlte, wenn sie auch teilweise nur sehr schwach war. Uebrigens tritt sie, wie wir sehen werden, gelegentlich auch bei No. 9 in sehr geringem Grade auf.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine regelmäßige Beziehung zwischen der Gärkraft der vorliegenden Organismen und der Glykogenreaktion, wie sie bei manchen Saccharomyceten beobachtet wird, scheint also in unserem Falle nicht zu bestehen. Die sehr gärkräftige Art No. 5 erzeugt unter allen Umständen eine teilweise ungemein glykogenreiche Vegetation und unterscheidet sich auch in dieser Beziehung sehr scharf von den übrigen untersuchten Arten.

Tabelle I.
Glykogenbildung in gehopfter Würze von 11,5 Proz. B.

| No. | Glykogenbildung in den Hautzellen | Glykogenbildung in den Zellen des Absatzes |
|---|---|---|
| | **Erste Gruppe.** | |
| 3 | Keine Glykogenreaktion | In den meisten Zellen keine Glykogenreaktion. An einzelnen Stellen der Zellhaufen intensivere Reaktion, meist diffus |
| 4 | Meist keine Reaktion, im übrigen eben erkennbar | Mehr oder weniger intensive Glykogenreaktion. Sehr intensiv ist sie in keinem Falle. Reaktion diffus und lokalisiert |
| 6 | — | In vereinzelten Zellen sehr mäßige Reaktion |
| 17 | In sehr vielen Zellen deutlich erkennbare Reaktion | In vielen Zellen deutlich erkennbare Reaktion, in einzelnen intensivere |
| 11 | In den meisten Zellen deutliche Reaktion, in einzelnen etwas intensivere | Die meisten Zellen ohne Glykogen. Einzelne Sproßverbände mit intensiver Reaktion |
| 5 | Gärungserscheinungen. Reaktion in den vom Schaum emporgehobenen Zellen allgemein eine sehr intensive | In den meisten Zellen Reaktion sehr intensiv. Reaktion meist diffus, weniger oft lokalisiert |
| 7 | — | Nur in einzelnen Zellen ziemlich intensive Glykogenreaktion, in anderen eben noch erkennbare. Die meisten Zellen ohne Reaktion |
| 8 | Sehr viele Zellen mit ziemlich intensiver, einzelne mit sehr intensiver, viele mit schwacher diffuser Reaktion | Nur vereinzelte Zellen mit Glykogenreaktion, und zwar ziemlich intensiver |
| | **Zweite Gruppe.** | |
| 1 | Sehr mäßige, diffuse Reaktion | Kaum Reaktion. Nur an einzelnen Stellen von Zellhaufen deutliche, aber schwache Reaktion |
| 9 | — | Keine Glykogenreaktion |
| 10 | — | „ „ |
| 2 | — | Sehr deutliche, in einzelnen Zellen sehr intensive, meist diffuse Glykogenreaktion |
| 15 | Reaktion allgemein, zum Teil sehr intensiv, makroskopisch sichtbar | Reaktion geringer als in den Hautzellen, sie fehlt fast vollständig |
| 16 | Keine Reaktion | In sehr vereinzelten Zellen Spuren von Glykogen, in wenigen deutliche Reaktion |
| | **Dritte Gruppe.** | |
| 12 | In den meisten Zellen deutliche, bis ziemlich intensive Reaktion, schon makroskopisch erkennbar. Reaktion lokalisiert, wenn stärker diffus (in den Vakuolen) | Wie Haut |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Glykogenbildung in neutralem Hefezuckerwasser.

| No. | Glykogenbildung in den Hautzellen | Glykogenbildung in den Zellen des Absatzes |
|---|---|---|
| | **Erste Gruppe.** | |
| 3 | Sehr vereinzelt Zellen mit eben sichtbarer, lokalisierter Glykogenreaktion | Sehr häufig Zellen mit sehr intensiver diffuser Glykogenreaktion |
| 4 | Nur in vereinzelten Zellen, insbesondere in großen, ist eine schwache, eben noch bemerkbare Glykogenreaktion wahrnehmbar. Reaktion diffus | Die Glykogenreaktion nimmt bis zum 3. Tage an Intensität zu, ist entschieden intensiver als in den Hautzellen, und zwar tritt sie entweder diffus oder an kleine Granula gebunden auf. Die Reaktion beschränkt sich auf eine relativ kleine Zahl von Zellen. Reaktion mäßig |
| 6 | — | Nur in vereinzelten Zellen sehr schwache Glykogenreaktion |
| 17 | Glykogenreaktion allgemeiner, jedoch schwach, anfangs an kleine Granula gebunden, später diffus. Einzelne Zellen mit ziemlich intensiver Reaktion | Reaktion häufig, diffus (in den Vakuolen), jedoch wenig intensiv. (Zum Teil sind es sichtlich zu Boden gesunkene Zellen der Haut) |
| 11 | Vereinzelte Zellen mit sehr intensiver Reaktion. Im übrigen nicht selten Reaktion in verschiedener Abstufung: von deutlich bis eben wahrnehmbar | Viele Zellen mit intensiver Reaktion. Im übrigen wie Haut |
| 5 | Sehr intensive, schon makroskopisch sichtbare Glykogenreaktion, die in der Vakuole der meisten Zellen auftritt. Der Inhalt der Vakuole erscheint, was vor dem Jodzusatz nicht sichtbar war, granuliert und tritt an diesen Granulis die Reaktion auf | Wie bei den Hautzellen mit der Modifikation, daß verhältnismäßig viele Zellen ohne Glykogen oder nur mit Spuren von Glykogen vorhanden sind. Absatz fadenziehend |
| 7 | Ring. Glykogenreaktion in allen Abstufungen von sehr intensiv bis völlig fehlend. Die Reaktion ist immer an Granula gebunden | Wie im Ringe, in keinem Falle ist aber die Reaktion so intensiv wie dort und sind viel mehr Zelleu ohne Reaktion. Diese ist immer an Granula gebunden |
| 8 | Sehr viele Zellen mit Glykogenreaktion, und zwar in allen Abstufungen von sehr intensiv bis fehlend. Bei sehr intensiver Reaktion erscheint diese diffus, bei schwächerer treten zwischendurch immer einzelne, stärker gefärbte Granula hervor | Wie Hautzellen |
| | **Zweite Gruppe.** | |
| 1 | Reaktion schwach, kommt erst bei Häufung der Zellen zur Geltung, ist dann aber makroskopisch sichtbar. Anfangs diffus, erscheint die Reaktion später vielfach in intensiv gefärbten Granulis lokalisiert | Die Mehrzahl der Zellen ist sicher glykogenfrei, bei den übrigen ist der Glykogengehalt ein sehr geringer und kommt erst bei Häufung der Zellen zur Geltung |
| 9 | — | Keine Glykogenreaktion |
| 10 | — | „ „ |
| 2 | Nur in wenigen Zellen Glykogenreaktion, aber immer sehr schwach, diffus | Sehr zahlreiche Zellen verschiedener Form mit sehr intensiver, diffuser, schon makroskopisch sichtbarer Glykogenreaktion |
| 15 | In sehr vielen Zellen, und zwar teilweise ziemlich intensive, an Granula gebundene, makroskopisch sichtbare Glykogenreaktion | Reaktion ähnlich wie in der Haut, jedoch sind mehr Zellen frei von Glykogen. (Viele zu Boden gesunkene Hautzellen) |

Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| No. | Glykogenbildung in den Hautzellen | Glykogenbildung in den Zellen des Absatzes |
|---|---|---|
| 16 | Nur einzelne große Gruppen von Zellen zeigen eine ziemlich intensive charakteristische (braunviolette bis braunrote) diffuse Reaktion | Reaktion wie in der Haut, ist meist an sehr viele und kleine Granula gebunden. (Der verhältnismäßig geringe Absatz besteht sichtlich zum größten Teil nur aus zu Boden gesunkenen Hautteilchen) |
| | **Dritte Gruppe.** | |
| 12 | Die Reaktion fällt an verschiedenen Stellen der Haut sehr verschieden aus; an einzelnen Stellen ist sie an den Hautstückchen schon makroskopisch sichtbar und dann ziemlich intensiv an Granula gebunden oder diffus (in den Vakuolen); an anderen ist absolut keine Reaktion erkennbar | Meist deutliche, aber schwache, diffuse Reaktion |

Von gelegentlichen Beobachtungen über Glykogengehalt der vorliegenden Sproßpilze mag noch folgendes angeführt sein. Bei durchschnittlich 14 Tage lang in neutralem Hefezuckerwasser bei 35° C gehaltenen Kulturen von No. 1, 2, 3 + 4, 5, 9 und 10 waren No. 1 und 10 frei von Glykogen, bei No. 3 + 4 und No. 9 zeigten nur vereinzelte Zellen schwache bis sehr schwache Reaktion, No. 5 hatte dagegen sehr kräftige, ungemein glykogenreiche Zellen erzeugt.

Von den bei 6° C während 2 Monaten in gehopfter Würze gewachsenen Kulturen besaßen kein Glykogen: No. 1, 3, 6, 9, 10 und 11; sehr schwache Reaktion gaben: No. 4, 7 und 17, schwache bis mäßige: No. 2 und 12, stärkere: No. 5, 15 und 16, sehr stark: No. 8.

Von den untersuchten Arten No. 1, 2, 9, 10, 12, 15 und 17, welche während 6—13 Tagen in Strichkulturen auf 10-proz. gehopfter Würzegelatine bei 12—15° C gewachsen waren, zeigten nur No. 2 und 17 sehr schwache, No. 16 spurenhafte, die übrigen keine Glykogenreaktion.

Von den während eines Monats bei Zimmertemperatur in der Hayduckschen Nährlösung entwickelten Kulturen der Arten No. 1, 5—12 und 15—17 gaben No. 6, 9, 10, 15 und 16 keine Glykogenreaktion; bei No. 17 war die Reaktion zweifelhaft, sehr schwach bis schwach bei No. 1, 7, 8 und 11, sehr stark bei No. 12. Bei No. 5 trat deutliche Reaktion an einer die Vakuolen der Zelle völlig ausfüllenden, stark lichtbrechenden Substanz auf.

Auch in den Milchkulturen wurde bei No. 5 mindestens eine mäßige, an einzelnen Zellen eine intensive Glykogenreaktion beobachtet. Eine deutliche Reaktion trat hier an einzelnen Zellen bei No. 8, eine schwache bei einzelnen Oberflächenzellen von No. 7, eine sehr schwache, aber deutliche bei No. 11 auf; bei den übrigen untersuchten Kulturen von No. 4, 6, 12, 16 und 17 fehlte sie.

### Säurebildung und Säureverzehrung.

Ueber die Versuche, welche das eventuelle Säurebildungsvermögen der vorliegenden Organismen, und zwar in gehopfter Bierwürze, darlegen sollten, wurde schon in der I. Mitteilung berichtet. Ganz kurz soll hier nur noch einmal das Ergebnis angeführt werden.

Die Acidität der Würze nimmt in den meisten Fällen während der Entwickelung der Organismen nicht zu, sondern ab, und zwar ist die

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abnahme, wie sich aus den folgenden Zahlen ergibt, bei No. 12 eine recht beträchtliche, während sie bei den übrigen Kulturen ebenso wie die Zunahme im allgemeinen nicht bedeutend ist.

Acidität der Kontrollwürze zu Beginn und am Schlusse des Versuches = 19 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH. Acidität der Würze am Schlusse des Versuches nach 1 Monat bei 20° C.

| Erste Gruppe: | Zweite Gruppe: | Dritte Gruppe: |
|---|---|---|
| No. 3 = 17 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH | No. 1 = 25 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH | No. 12 = 6 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH |
| „ 4 = 16 „ „ „ | „ 9 = 21 „ „ „ | |
| „ 6 = 14 „ „ „ | „ 10 = 21 „ „ „ | |
| „ 17 = 17 „ „ „ | „ 2 = 16 „ „ „ | |
| „ 11 = 16 „ „ „ | „ 15 = 16 „ „ „ | |
| „ 5 = 25 „ „ „ | „ 16 = 22 „ „ „ | |
| „ 7 = 25 „ „ „ | | |
| „ 8 = 17 „ „ „ | | |

Als Indikator bei der Titration diente die Luck sche Phenolphtaleinlösung.

Bei den Organismen der ersten Gruppe überwiegen die Säureverzehrer, in der zweiten Gruppe die Säurevermehrer. Die Art No. 5, welche sich schon hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber den Zuckerarten den Organismen der zweiten Gruppe nähert, steht auch durch die Säurebildung dieser Gruppe näher als der ersten.

Eine regelmäßige Beziehung der raschen Hautbildung der Organismen auf der Würzeoberfläche zur Abnahme der Acidität ist nicht erkennbar. Allerdings hat bei den meisten Arten, bei welchen schon nach kurzer Zeit die Flüssigkeitsoberfläche von einer Haut überzogen ist (No. 3 + 4, 15, 17, 11, 2 und 12) die Acidität, und zwar bei No. 12 sehr bedeutend, abgenommen, bei No. 16, deren Kulturen ebenfalls schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit von einer ungemein starken Haut bedeckt sind, dagegen zugenommen.

In noch höherem Grade als bei der gehopften Bierwürze als Nährlösung kam das Säureverzehrungsvermögen der meisten der vorliegenden Organismen bei Anwendung von Sauerkrautwasser zum Ausdruck.

Verschiedene Beobachtungen hatten schon früher ergeben, daß die bei der milchsauren Gärung des Sauerkrautes sich abscheidende wässerige Flüssigkeit, die Brühe, ein sehr günstiger Nährboden nicht nur für gewisse Bakterien, hauptsächlich Milchsäurebakterien, sondern auch für Mycoderma und andere Sproßpilze, unter welchen sich Torula-Arten befinden, abgeben. Insbesondere war bei den mit einer Mycoderma-Art[1]) durchgeführten Versuchen nachgewiesen worden, daß unter Umständen eine Säureverzehrung stattfindet. Die vorliegenden Organismen sollten daher daraufhin geprüft werden, ob sie sich in dem benutzten Sauerkrautwasser entwickeln können und wie sie sich der vorhandenen Säure gegenüber verhalten.

Das Sauerkrautwasser wurde einer Münchener Krautfabrik, und zwar Ende Oktober dem ältesten Ständer entnommen. Zur Vorbereitung des trüben Wassers für den Versuch wurde es in folgender Weise behandelt. Zunächst entfernte man die gröberen suspendierten Bestandteile (Krautschnitzel und Mycoderma-Häute) durch ein feines

1) Will, H., Eine Mycoderma-Art und deren Einfluß auf Bier. II. Mitteilung. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. 23. p. 209. Anmerkung.)

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Hefesieb. Hierauf erfolgte eine Klärung durch Zusatz von Eiweiß und Aufkochen im Dampftopf. Das erste Filtrat war nicht klar, und es wurde deshalb eine nochmalige Klärung durch Eiweiß vorgenommen. Das zweite, blitzblanke Filtrat verteilte man sodann in Mengen von 120 ccm auf Erlenmeyer-Kolben. Beim Sterilisieren der Kolben trübte sich die Flüssigkeit wieder schwach und setzten sich auch die trübenden Bestandteile während eines mehrtägigen ruhigen Stehens nicht ab, sie nahmen aber auch nicht zu.

Zur Neutralisierung von 10 ccm der Flüssigkeit wurden 11 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH gebraucht; die Acidität entspricht also, auf Milchsäure berechnet, 0,99 g Säure in 100 ccm Sauerkrautwasser. Als Indikator wurde bei der Titration Lackmus benutzt, und die Neutralitätsprobe mittelst der Strichmethode (Gegenprobe mit Brunnenwasser) gemacht.

In einer ersten Versuchsreihe wurde das Sauerkrautwasser unverdünnt benutzt und mit je einer Platinöse der bei 25° C während 5 Tage in gehopfter Würze hergezüchteten Organismen, die sich nach der mikroskopischen Untersuchung in guter Verfassung befanden, geimpft. Die Kulturen kamen gleichzeitig mit einer Kontrollprobe ohne Impfung bei 25° C zur Aufstellung.

Die fortlaufenden Beobachtungen ergaben, daß sichtbar nur einzelne der Organismen zur Entwickelung kamen, vermutlich also der Milchsäuregehalt der Flüssigkeit zu hoch war.

Nach 1 Monat zeigten die Kulturen folgendes Verhalten:

### Erste Gruppe.

No. 3. Flüssigkeit kaum getrübt, geringer Bodensatz. Sproßverbände lebender Zellen sind vorhanden, die meisten Zellen des Absatzes sind jedoch tot.

No. 4. Nur sehr vereinzelt lebende Zellen, im übrigen wie bei No. 3.

No. 6. Keine lebenden Zellen, im übrigen wie No. 3.

No. 17. Mäßige Haut, starke Trübung und sehr starker Bodensatz.

No. 11. Sichtlich hat noch eine sehr geringe Entwickelung stattgefunden, die Zellen sind jedoch abgestorben. Im übrigen wie No. 3.

No. 5, 7 und 8. Wie No. 6.

### Zweite Gruppe.

No. 1. Entwickelung einer Haut nach 17 Tagen, also sehr langsam. Nach 1 Monat mäßige Haut, starker Ring, ungemein starker Bodensatz von kräftig entwickelten Zellen von normaler Form und Größe. Sauerkrautwasser stark entfärbt.

No. 9. Nach 1 Monat geringe Haut, starke Trübung und sehr starker Absatz aus kräftigen Zellen von normaler Form und Größe; langgestreckte Zellen selten. Sauerkrautwasser stark entfärbt.

No. 10. Wie No. 6.

No. 2. Desgl. Keine Entwickelung.

No. 15. Ziemlich starke Haut, ziemlich starke Trübung, sehr starker Bodensatz. Alle charakteristischen Zellformen. Entfärbung nur schwach.

No. 16. Wie No. 6.

### Dritte Gruppe.

No. 12. Ungemein dicke, fest zusammenhängende, grob gefaltete Haut. Sehr starke Entfärbung. Während bei den übrigen Kulturen,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welche entfärbt hatten, die Färbung des Sauerkrautwassers weingelb war, ist sie hier hell rotgelb. Alle charakteristischen Zellformen.

Kontrollprobe: leicht getrübt, sehr geringer Absatz, keimfrei.

Bei der Titration in der oben angegebenen Weise wurden verbraucht:

| Erste Gruppe. | Zweite Gruppe. | Dritte Gruppe. |
|---|---|---|
| No. 3 = 6,7 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH | No. 1 = 4,1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH | No. 12 = neutral |
| „ 4 = 10,5 „ „ „ | „ 9 = 3,8 „ „ „ | |
| „ 6 = 11,0 „ „ „ | „ 10 = 10,8 „ „ „ | |
| „ 17 = 2,1 „ „ „ | „ 2 = 11,0 „ „ „ | |
| „ 11 = 10,5 „ „ „ | „ 15 = 0,5 „ „ „ | |
| „ 5 = 10,5 „ „ „ | „ 16 = 10,2 „ „ „ | |
| „ 7 = 10,7 „ „ „ | | |
| „ 8 = 10,5 „ „ „ | | |

Kontrollprobe: 10,8 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Der Säuregehalt gegenüber den Kontrollproben differiert also in allen Fällen, in welchen keine Entwickelung stattgefunden hatte, nur um ein sehr geringes. Der Unterschied bewegt sich innerhalb der Fehlergrenze. Bei den meisten Kulturen, in welchen sich die Einsaat noch entwickelte, ist der Säuregehalt sehr stark zurückgegangen, bei No. 12 ist die Nährflüssigkeit sogar neutral geworden.

Einige der vorliegenden Organismen entwickeln sich also noch bei einem ursprünglich verhältnismäßig hohen Säuregehalt. Dabei wird es allerdings zum Teil auch auf die Beschaffenheit, die größere oder geringere Empfindlichkeit der eingesäten Zellen ankommen. Der Unterschied im Verhalten zwischen No. 3 und 4 dürfte nach allen übrigen Beobachtungen jedenfalls nur auf eine etwas geringere Widerstandsfähigkeit der Einsaat zurückzuführen sein, die übrigens auch noch bei den anderen Organismen, welche sich in dem Sauerkrautwasser mit hohem (nahezu 1 Gewichtsproz.) Gehalt an Säure nicht mehr entwickelten, in Betracht zu ziehen sein dürfte.

Die Säureverzehrer bei dem hohen Säuregehalt sind in der zweiten Gruppe häufiger als in der ersten.

Da also offenbar der Säuregrad des ursprünglichen Sauerkrautwassers der Entwickelung vieler der Organismen ungünstig war, so wurde es in einer zweiten, in der gleichen Weise wie die erste durchgeführten Versuchsreihe mit Wasser verdünnt. Die Acidität entsprach, auf Milchsäure berechnet, = 0,36 g in 100 ccm.

Beim Abschluß dieser Versuchsreihe nach 1 Monat zeigte die Entwickelung der Kulturen folgendes Bild.

## Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Sehr starke, kreideweiße, gekröseartig gefaltete Haut. Flüssigkeit trüb. Starker, lockerer Absatz von Hefenfarbe. Typische Torula-Zellen von 2—3 $\mu$ Durchmesser. Riesenzellen.

No. 6. Weder Haut noch Ring. Flüssigkeit stark verschleiert. Ziemlich starker, lockerer, weißlicher Absatz. Vorherrschend ellipsoidische Torula-Zellen von 2—3 $\mu$ Durchmesser. Sehr selten gestreckte Zellformen.

No. 17. Schwache, farblose, glatte Haut. Flüssigkeit stark verschleiert. Starker, lockerer, weißlicher Absatz. Typische Torula-Zellen von 2—3 $\mu$ Durchmesser.

No. 11. Mäßige, farblose Haut, soweit sie die Flüssigkeitsoberfläche bedeckt; weißlich, soweit sie sich an der Kolbenwandung hinzieht.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Flüssigkeit stark getrübt. Sehr starker, lockerer, weißlicher Absatz. Typische Torula-Zellen von 2—4 $\mu$ Durchmesser. Im Absatz und in der Haut reichlich gestreckte Zellen. Riesenzellen.

No. 5. Starke, farblose Haut, soweit sie die Flüssigkeitsoberfläche bedeckt; weißlich, soweit sie sich an der Kolbenwandung hinzieht. Starker, lockerer Absatz von Hefefarbe. Auch kugelförmige und ellipsoidische typische Torula-Zellen mit einem Oelkörperchen.

No. 7. Flüssigkeit klar, keine Haut oder Ring. Geringer Absatz, der jedoch zum größten Teil aus Ausscheidungen des Sauerkrautwassers besteht.

Die Anzahl der im Bodensatz wiedergefundenen, und zwar ausschließlich toten Zellen ließ nicht darauf schließen, daß eine Vermehrung stattgefunden hatte.

No. 8. Wie No. 7.

Zweite Gruppe.

No. 1. Sehr mäßige Hautbildung. Ziemlich starker Ring. Flüssigkeit getrübt. Sehr starker, ziemlich fester Absatz von Hefenfarbe. Vorherrschend ellipsoidische Zellen von sehr verschiedener Größe, durchschnittlich 2—3 $\mu$ groß. Sehr viele kleine Zellen. Gestreckt-ellipsoidische und längere Zellen.

No. 9. Nur Spuren einer Haut, kein Ring. Flüssigkeit stark getrübt. Starker, lockerer, weißlicher Absatz. In der Haut gestreckte, im Absatz ausschließlich gedrungenere, meist ellipsoidische Zellen von 2—3 $\mu$ Durchmesser und kleinere Zellen. Riesenzellen.

No. 10. Mäßige Haut. Flüssigkeit getrübt. Sehr starker, flockiger Absatz von Hefenfarbe. Im Absatz und in der Haut sehr reichlich langgestreckte Zellen neben ellipsoidischen. Die Signatur der Zellen ist auch hier klein und dünn.

No. 2. Starke, farblose Haut. Starker, weißer Ring. Flüssigkeit trüb. Sehr starker, lockerer, hefenartiger Absatz. In der Haut und im Absatz fast ausschließlich ellipsoidische bis kugelförmige Zellen (wie typische Torula-Zellen) von 2—3 $\mu$ Durchmesser. Sehr viele kleine Zellen. Riesenzellen. Langgestreckte Zellen ungemein selten; erreichen keine größeren Dimensionen.

No. 15. Mäßige, farblose Haut. Flüssigkeit verschleiert. Mäßiger, sehr lockerer Absatz von Hefenfarbe. Form und Größe der Zellen weichen im allgemeinen nicht von der normalen ab. Vorherrschend kugelförmige und ellipsoidische Zellen; sehr langgestreckte fehlen.

No. 16. Ziemlich starke, glatte, farblose Haut. Flüssigkeit klar. Starker, lockerer, flockiger, hefenartiger Absatz. Vorherrschend sind Zellen, wie typische Torula-Zellen, die aber durchschnittlich klein sind (3 $\mu$), sehr viel langgestreckte Zellen.

Dritte Gruppe.

No. 12. Sehr starke, grobgefaltete, glasige Haut. Flüssigkeit klar, sehr stark entfärbt. Wenige grobe Flocken am Boden des Kulturgefäßes (aus der Haut). Die Form der Zellen ist die normale, jedoch sind sie durchweg schlanker.

Kontrollprobe: keimfrei.

Eine Entwickelung trat also in allen Kulturen, ausgenommen No. 7 und 8, ein.

In allen Kulturen war das Sauerkrautwasser mehr oder weniger entfärbt. Bemerkenswert ist erstens die Tatsache, daß die Zellen durch-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schnittlich kleiner und die langgestreckten schlanker, dünner waren, zweitens daß sich bei den der ersten Gruppe angehörenden Torula-Arten in der saueren Nährlösung ganz allgemein eine Tendenz zur Streckung geltend machte, wie dies ja häufig auch bei den Saccharomyceten in den auf natürlichem Wege durch Bakterienentwickelung gesäuerten Würzen der Fall ist. Die Reaktion der Nährlösung war folgende:

Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Schwach alkalisch (0,1 ccm $\frac{n}{5}$ $H_2SO_4$).

„ 6 = 0,6 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH = 0,054 g Milchsäure in 100 ccm.

„ 17. Neutral.

„ 11. „

„ 5. Schwach alkalisch (0,1 ccm $\frac{n}{5}$ $H_2SO_4$).

„ 7 = 3,3 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH = 0,3 g Milchsäure in 100 ccm.

„ 8 = 3,2 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH = 0,288 g Milchsäure in 100 ccm.

Zweite Gruppe.

No. 1. Neutral.

„ 9. „

„ 10. „

„ 2. Schwach alkalisch (0,1 ccm $\frac{n}{5}$ $H_2SO_4$)

„ 15. Neutral.

„ 16. „

Dritte Gruppe.

No. 12. Neutral.

Wie in der ersten Versuchsreihe, ist also in allen Kulturen, in welchen eine Entwickelung stattgefunden hatte, die Säure zurückgegangen, und zwar ist sie in vielen Kulturen völlig verzehrt worden. Hauptsächlich sind es die Organismen der zweiten und dritten Gruppe, welche sich durch ihre starke Einwirkung auf die Säure des Sauerkrautwassers auszeichnen, während diejenigen der zweiten Gruppe der gehopften Würze gegenüber sich vorwiegend als Säurevermehrer erwiesen. In einzelnen Fällen ging die Einwirkung der Organismen, jedenfalls durch proteolytische Enzyme, so weit, daß die Nährflüssigkeit schwach alkalisch reagierte.

### Verflüssigung von 10-proz. Würzegelatine in Stichkulturen und bei gleichmäßiger Verteilung.

Schon gelegentlich der Herstellung von Reinkulturen von Sproßpilzen ohne Sporenbildung aus verschiedenen Brauereiprovenienzen für unsere Sammlung wurde in sehr mißfälliger Weise die Beobachtung gemacht, daß sich unter diesen Organismen solche befinden, welche die Nährgelatine sehr rasch verflüssigen. So verflüssigte eine mit der No. 20 eingereihte Art die Gelatine in der Böttcherschen feuchten Kammer so rasch, daß die Abimpfung der Kulturen unmöglich war. Am 2. Tage waren schon sehr viele Kolonieen zerflossen und am 4. Tage die ganze Gelatine verflüssigt. Ebenso hatten No. 2, 9 und 10 die Gelatine schon am 4. Tage verflüssigt[1]). Bemerkt mag zur Ergänzung früherer Mit-

1) Die rasche Verflüssigung der Gelatine durch manche der Arten, die geringe Größe der Zellen und das langsame Wachstum bieten gegenüber der Mehrzahl der Saccharomyceten gewisse, allerdings nicht unüberwindbare Schwierigkeiten bei der Reinzüchtung vieler Sproßpilze ohne Sporenbildung.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

teilungen sein[1]), daß in der verflüssigten Gelatine kaum tote Zellen vorhanden waren und die lebenden sich meist in sehr guter Verfassung befanden. Aehnlich verhielt sich die Art No. 16, deren kräftige Zellen innerhalb 5 Tagen die Gelatine dünnflüssig gemacht hatte. Systematische Versuche, welche Herr Dr. C. Becker in unserem Laboratorium mit den vorliegenden 14 Arten ausgeführt hatte, ergaben, daß die Schnelligkeit, mit welcher diese 10-proz. gehopfte Würzegelatine verflüssigen, eine verschiedene ist. Möglicherweise konnte also durch die Feststellung des proteolytischen Vermögens ein unterscheidendes Merkmal für die Organismen wenigsten nach der Richtung gewonnen werden, daß die verschiedenen Gruppen im allgemeinen deutliche Unterschiede nach der Schnelligkeit, mit welcher die Gelatine zu verflüssigen beginnt und ein bestimmtes Volumen völlig verflüssigt ist, zeigten.

Die zu den Versuchen verwendete 10-proz. Nährgelatine war in der üblichen Weise aus einer gehopften Bierwürze von 14,2 Proz. Bllg. hergestellt und in Mengen von 10 ccm auf Reagenzgläser verteilt worden. Diese wurden zweimal je 10 Minuten im strömenden Dampf sterilisiert. Das Impfmaterial bestand in 4 Tage alten Kulturen, welche sich nach der mikroskopischen Untersuchung in normaler Weise entwickelt hatten.

Die Beimpfung geschah in der Weise, daß wieder die Würze unter möglichster Schonung der vorhandenen Hautbildungen abgegossen und mit einem geringen Rest derselben der Bodensatz, die Haut und ein etwaiger Ring durch starkes Schütteln miteinander vermischt wurde. In der einen Versuchsreihe wird die Einsaat (1 Platinöse) in der verflüssigten Gelatine wie früher angegeben[2]), möglichst gleichmäßig verteilt; in der zweiten werden gewöhnliche Stichkulturen angelegt, immer in je zwei Parallelkulturen. Die geimpften Kulturen werden zu 20° C gebracht.

Das Ergebnis der zwei Versuchsreihen ist in den beiden folgenden Tabellen zusammengefaßt. Die Parallelkulturen zeigten, wenigstens bezüglich des Beginnes der Verflüssigung recht gute Uebereinstimmung. Auch waren die Abweichungen für die Zeit, welche zur völligen Verflüssigung notwendig war in den meisten Fällen, insbesondere aber bei den Stichkulturen, keine allzu großen; hier ist die kürzeste beobachtete Zeit eingesetzt. In der letzten Rubrik ist das Verhalten der verflüssigten Gelatine im Eiskasten (bei + 6° C) angegeben. Studien an meinen Versuchshefen, welche noch nicht veröffentlicht sind, haben mir gezeigt, daß bei der Verflüssigung der Gelatine durch verschiedene Arten die Abbaustufe eines bestimmten Gelatinevolumens unmittelbar nach der Verflüssigung, geprüft nach ihrem Verhalten bei niederer Temperatur, eine sehr verschiedene ist. Die Gruppen von Arten mit verschieden schnellem Abbauvermögen sind bei allen bis jetzt geprüften Temperaturen wieder erkennbar.

(Siehe Tabelle I und II p. 706.)

Zunächst sei zu Tabelle I bemerkt, daß bei No. 16 am 21. Tage in beiden Parallelkulturen schon fast die ganze Gelatine unterhalb des Oberflächenbelages zähflüssig war, sich also eine sehr energische und umfassende Wirkung geltend gemacht hatte, wie sie schon bei der Reinkultur in der Böttcherschen feuchten Kammer beobachtet worden war.

1) Will, H., Studien über Proteolyse durch Hefen. II. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. XXIV. 1901. p. 206.)

2) Will, H., Studien über Proteolyse durch Hefen. I. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. XXI. 1898. p. 150.)



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I. Verflüssigung von 10-proz. gehopfter Würzegelatine.
Stichkultur.

| No. | Beginnende Verflüssigung nach Tagen | Völlige Verflüssigung nach Tagen | Reaktion der verflüssigten Gelatine | Verhalten der verflüssigten Gelatine im Eiskasten |
|---|---|---|---|---|
| | | | **Erste Gruppe.** | |
| 3 | 19 | 104 | 1. Mäßig sauer. 2. Schwach alkalisch | Nach 48 Stunden nicht erstarrt |
| 4 | 21 | 136 | Schwach sauer | Nach 24 Stunden nicht erstarrt |
| 6 | 50 | 121 | „ „ | „ „ „ „ „ |
| 17 | 50 | 198 | „ „ | Nach 24 Stunden die dünnflüssige Gelatine etwas zähflüssiger |
| 11 | 45 | 126 | „ „ | Nach 24 Stunden nicht erstarrt |
| 5 | 19 | 180 | Stark sauer | „ „ „ „ „ |
| 7 | 62 | 144 | Sehr schwach sauer | Nach 24 Stunden ist die dünnflüssige Gelatine dickflüssiger |
| 8 | 12 | 75 | Schwach sauer | Nach 24 Stunden nicht erstarrt |
| | | | **Zweite Gruppe.** | |
| 1 | 28 | 122 | Stark sauer | Nach 24 Stunden nicht erstarrt |
| 9 | 19 | 97 | Deutlich sauer | „ „ „ „ „ |
| 10 | 17 | 140 | „ „ | „ „ „ „ „ |
| 2 | 45 | 105 | Schwach alkalisch | „ „ „ „ „ |
| 15 | 26 | 145 | Schwach sauer | „ „ „ „ „ |
| 16 | 21 | 66 | Deutlich sauer | „ „ „ „ „ |
| | | | **Dritte Gruppe.** | |
| 12 | 45 | 112 | Schwach alkalisch | Nach 24 Stunden nicht erstarrt. |

Tabelle II. Verflüssigung von 10-proz. gehopfter Würzegelatine.
Gleichmäßige Verteilung.

| No. | Beginnende Verflüssigung nach Tagen | Völlige Verflüssigung nach Tagen | Reaktion der verflüssigten Gelatine | Verhalten der verflüssigten Gelatine im Eiskasten |
|---|---|---|---|---|
| | | | **Erste Gruppe.** | |
| 3 | 13 | 139 | 1. Schwach sauer. 2. Sehr schwach alkalisch | Nach 24 Std. nicht erstarrt, dünnflüssig |
| 4 | 21 | 136 | 1. Schwach sauer. 2. Neutral | „ „ „ „ „ „ |
| 6 | 53 | 146 | Mäßig sauer | „ „ „ „ „ „ |
| 17 | 50 | 247 | Deutlich sauer | „ „ „ „ „ „ |
| 11 | 45 | 217 | Mäßig sauer | „ „ „ „ „ „ |
| 5 | 80 | 189 | Sehr schwach sauer | Nach 24 Stunden Gelatine etwas dickflüssiger. Das Volumen der Gelatine ist auf etwa $^1/_3$ reduziert |
| 7 | 22 | 125 | Sehr schwach sauer | Nach 24 Std. nicht erstarrt, dünnflüssig |
| 8 | 8 | 78 | Schwach sauer | „ „ „ „ „ „ |
| | | | **Zweite Gruppe.** | |
| 1 | 19 | 159 | 1. Stark sauer. 2. Deutlich alkalisch | Nach 24 Std. nicht erstarrt, dünnflüssig |
| 9 | 6 | 88 | Deutlich sauer | „ „ „ „ „ „ |
| 10 | 6 | 81 | „ „ | „ „ „ „ „ „ |
| 2 | 28 | 111 | Schwaeh alkalisch | „ „ „ „ „ „ |
| 15 | 19 | 124 | Schwach sauer | „ „ „ „ „ „ |
| 16 | 19 | 75 | Sehr schwach alkalisch | „ „ „ „ „ „ |
| | | | **Dritte Gruppe.** | |
| 12 | 45 | 119 | Schwach alkalisch | Nach 24 Std. nicht erstarrt, dünnflüssig |

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Ferner erschien bei No. 2 der II. Tabelle im Verhältnis zur Massenentwickelung die Verflüssigung eine langsame. Während sich in den übrigen Kulturen nur starke Absätze vorfanden, war hier die ganze verflüssigte Gelatine von dem Organismus erfüllt.

Aus dem Ergebnis der beiden Versuchsreihen ist ersichtlich, daß die Organismen der zweiten Gruppe im allgemeinen rascher verflüssigen als diejenigen der ersten Gruppe. Wir finden trotz der Verschiedenheit in der Versuchsanstellung in beiden Reihen recht gute Uebereinstimmung, so beispielsweise bei No. 4, 8, 16 und 12, die doch nicht so ganz zufälliger Natur sein dürfte, insbesondere wenn wir hierzu noch die für die Parallelkulturen erhaltenen Zeitangaben und die Reihenfolge der Arten bei einem mit einer beschränkten Anzahl derselben wiederholt ausgeführten Versuch in Betracht ziehen. Es ist ja richtig, daß bei zeitlich auseinanderliegenden Versuchen recht verschiedene absolute Werte für die Verflüssigung erhalten werden können. Beim Vergleich mit anderen Organismen wird sich aber trotzdem, soweit ich hierüber unterrichtet bin, im allgemeinen wieder dieselbe Reihenfolge feststellen lassen.

Der Abbau der Gelatine war bei den Organismen der zweiten und dritten Gruppe nach völliger Verflüssigung der 10 ccm Gelatine übereinstimmend in beiden Versuchsreihen so weit vorgeschritten, daß diese im Eiskasten nicht mehr erstarrte oder wenigstens zähflüssiger wurde. Bei der ersten Gruppe war dies nicht in der gleichen Weise der Fall, jedoch herrschte keine Uebereinstimmung über die Arten, bei welchen die anfangs dünnflüssige Gelatine nach 24-stündigem Aufenthalt im Eiskasten an Konsistenz zugenommen hatte.

### Schwefelwasserstoffbildung.

Mit Untersuchungen über die Schwefelwasserstoffbildung durch Saccharomyceten beschäftigt[1], habe ich auch die vorliegenden Organismen in diese miteinbezogen. Wieder in Hinsicht auf praktische Fragen des Brauereibetriebes wurde zunächst das Verhalten in gehopfter Bierwürze, und zwar aus den Brauereien C und E, sowie in der Würze H ausgeschwefeltem Malz[2]), aus welchen die meisten der angewendeten Versuchshefen (Kultur und wilde Hefen) in verschiedenem Grade Schwefelwasserstoff zu entwickeln im stande waren. Die Versuchsanstellung war die gleiche wie dort. 200 ccm fassende Pasteur-Kölbchen wurden mit je 100 ccm Würze von 12—14 Proz. Bllg. gefüllt, eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert und nach mehrtägigem Stehenlassen zwecks Lüftung mit den in gehopfter Bierwürze in $^1/_8$ l Pasteur-Kölbchen herangezüchteten, gut entwickelten und kräftigen Reinkulturen nach Mischung von Hautbildungen und Bodensatz in Mengen von 3—4 ccm geimpft.

Der Nachweis von Schwefelwasserstoff geschah in der Weise, daß mit einer Lösung von essigsaurem Blei getränkte Filtrierpapierstreifen von ca. 10 cm Länge und 2 cm Breite in ein kurzes Reagenzglas eingeführt und dieses über das nach aufwärts ragende Ende des doppelt gebogenen Rohres des Pasteur-Kolbens gestülpt wurde. Das Reagenzglas saß auf einem Kork lose auf. Hierdurch war ermöglicht, das Reagenzglas so zu stellen, daß die Oeffnung des doppelt gebogenen

---

1) Will, H. und Wanderscheck, Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. I. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. XXIX. 1906. p. 73. Vergl. d. Centralbl. Bd. XVI. 1906. p. 303.

2) Vergl. a. a. O. p. 75 und 305.



Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Rohres stets in gleichmäßig schräger Richtung mit dem getränkten Papierstreifen in direkter Berührung blieb. Das Bleipapier wurde stets feucht gehalten.

Die Beobachtung der Kulturen dauerte bei Zimmertemperatur bei Würze C 21 Tage, bei E 15, bei H 11 Tage. In sämtlichen Kulturen hatten sich die Organismen in der früher angegebenen Weise normal entwickelt.

Nach den Erfahrungen, welche wir mit einigen hautbildenden Formen, wie Mycoderma, Willia und Pichia bezüglich der Schwefelwasserstoffentwickelung gemacht haben[1]), wurden die Kulturen einige Tage vor Abschluß der Versuche wiederholt tüchtig durchgeschüttelt. In keinem Falle trat jedoch auch nur die geringste Reaktion ein. Als Schwefelwasserstoffbildner im Brauereibetrieb können also die vorliegenden Organismen kaum in Betracht kommen. Gleichwohl geht aber den meisten von ihnen das Schwefelwasserstoffbildungsvermögen nicht ab. Schon früher[2]) konnten wir die Mitteilung machen, daß von den acht der geprüften Arten bei einem Zusatz von pulverisiertem Schwefel (0,3 g auf 100 ccm Würze) No. 2, 9 und 16 ungemein starke Reaktion, No. 6 eine schwache und No. 5 eine sehr schwache Reaktion gaben. Bei No. 1, 11 und 17 trat sie auch trotz des Schwefelzusatzes nicht auf. Gleichwohl waren auch sie imstande, und zwar in einer mineralischen Nährlösung bei Gegenwart von Schwefel Schwefelwasserstoff zu entwickeln.

Unsere mit Saccharomyceten in einer mineralischen Nährlösung mit Magnesiumsulfat (ohne Schwefelzusatz) durchgeführten Versuche haben uns gezeigt, daß hier die Reaktion meist eine starke, in einzelnen Fällen sogar eine sehr starke war, und zwar vielfach stärker als bei den Würzen. Einzelne Hefen, welche in Würze überhaupt keine oder höchstens eine schwache Reaktion gaben, lieferten sogar eine starke.

Aus diesem Grund wurde das Verhalten sämtlicher Organismen in einer mineralischen Nährlösung, welche jedoch keine Sulfate enthielt, mit einem Zusztz von Schwefel geprüft.

Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

5 g Asparagin
0,25 g $CaHPO_4$
2,275 g $KH_2PO_4$
1,05 g $MgCl_2$
5 Proz. Rohrzucker
} gelöst in 500 g Wasser.

Die Lösung wurde in $^1/_8$ l Pasteur-Kölbchen verteilt. Nach dem Sterilisieren wurde 0,3 g fein pulverisierter Schwefel hinzugegeben und nochmals sterilisiert.

Das Aussaatmaterial war in gehopfter Würze während 9 Tage bei Laboratoriumstemperatur hergezüchtet worden und hatte sich in gewohnter Weise entwickelt. Nach der mikroskopischen Untersuchung befanden sich die Zellen in guter Verfassung.

Die Einsaat wurde in der Weise vorgenommen, daß zunächst von den Kulturen durch entsprechende Neigung der Kölbchen die Würze unterhalb der Hautbildungen bis auf etwa 10 ccm abgegossen und dann durch Schütteln Absatz und Haut gemischt wurden. Von dieser Mischung erhielt je 1 Pasteur-Kölbchen einen großen Tropfen. Im übrigen war

1) A. a. O. p. 90.
2) Desgl.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

der Mündung, wie früher, ein kleines Reagenzrohr mit einem in essigsaurem Blei getränkten Filtrierpapierstreifen vorgelegt. Das Ergebnis des Versuches läßt die folgende Zusammenstellung ersehen. Bezüglich der Bezeichnung des Grades der Reaktion sei bemerkt, daß bei sehr starker Reaktion zwar in der Umgebung der Ausmündung des doppelt gebogenen Rohres des Pasteur-Kölbchens eine intensivere Schwärzung aufgetreten war, diese sich jedoch nicht über die ganze Breite des Filtrierpapierstreifens erstreckte. Die übrigen Bezeichnungen sind ohne weitere Erklärung verständlich.

Schwefelwasserstoffbildung aus mineralischer Nährlösung mit Zusatz von pulverisiertem Schwefel.

| No. | Reaktion nach 11 Tagen |
|---|---|
| | **Erste Gruppe.** |
| 3 | Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von 2 cm geschwärzt |
| 4 | Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von $1^1/_2$ cm geschwärzt |
| 6 | Sehr starke Reaktion |
| 17 | Sehr starke Reaktion |
| 11 | Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von 2 cm geschwärzt |
| 5 | Desgl. |
| 7 | Desgl. |
| 8 | Keine Reaktion |
| | **Zweite Gruppe.** |
| 1 | Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von 2 cm geschwärzt |
| 9 | Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von $1^1/_2$ cm geschwärzt |
| 10 | Sehr starke Reaktion |
| 2 | Nach 7 Tagen Pb-Papier $^1/_2$ geschwärzt. Das erneuerte Pb-Papier nach 4 Tagen $^1/_2$ geschwärzt |
| 15 | Nach 7 Tagen Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von 3 cm geschwärzt. Das erneuerte Pb-Papier nach 4 Tagen $^1/_8$ geschwärzt |
| 16 | Nach 7 Tagen Pb-Papier $^2/_3$ geschwärzt. Das erneuerte Pb-Papier nach 4 Tagen $^1/_2$ geschwärzt. |
| | **Dritte Gruppe.** |
| 12 | Nach 7 Tagen Pb-Papier über die ganze Breite in einer Höhe von $3^1/_2$ cm geschwärzt. Das erneuerte Pb-Papier nach 4 Tagen nahezu $^1/_3$ geschwärzt. |

Die Art No. 8 der ersten Gruppe allein vermochte also auch unter diesen Bedingungen keinen Schwefelwasserstoff zu entwickeln. Im Vergleich zur zweiten und dritten Gruppe ist überhaupt das Schwefelwasserstoffbildungsvermögen der Organismen der ersten Gruppe mit den Torula-Arten im Sinne von Hansen verhältnismäßig gering. Die größten Mengen von Schwefelwasserstoff entwickelte No. 16, dann folgen No. 2, 12 und 15.

Auch hier[1]) wieder zeigt No. 5 mit den stärksten Gärungserscheinungen nicht auch die stärkste Reaktion. Dagegen stehen als hervorragende Schwefelwasserstoffbildner die zwar weniger als No. 5 gärkräftigen Arten No. 2 und 16, welche jedoch immerhin im Gegensatz zu den übrigen äußerlich sichtbare Gärungserscheinungen erkennen lassen, voran. Die Art. No. 16 ist also durch diese Eigenschaften und durch das starke proteolytische Vermögen recht gut charakterisiert.

Bezüglich der Zeit, nach Verlauf welcher zuerst eine Reaktion sichtbar wurde, sei folgendes bemerkt. Schon nach 19 Stunden zeigten eine

1) Vergl. a. a. O. p. 90.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

starke Reaktion No. 1 und 16, eine ziemlich starke No. 11 und 17, eine mäßige No. 2, 5, 10 und 15, eine schwache No. 12, eine sehr schwache No. 6. Dagegen fehlte eine Reaktion nach dieser Zeit bei No. 3 + 4, 7—9. Bei No. 3 + 4 trat sie erst am 5. Tage, nachdem die ziemlich stark entwickelte Haut durch Umschütteln in der Flüssigkeit verteilt worden war, auf; bei No. 7 und 9 erst am 7. Tage. Umschütteln förderte hier die Reaktion nicht, obgleich die Kultur mit No. 9 ebenfalls eine kräftige Haut erzeugt hatte. Bei No. 7 war im Verhältnis zu der bis zu diesem Zeitpunkt in mäßigem Umfang entwickelten Vegetation die Reaktion eine recht starke. Der Höhepunkt der Schwefelwasserstoffentwickelung wurde bei einigen Arten, wie bei No. 3 + 4, 11, 6 und 17, also bei den Torula-Arten der ersten Gruppe, außerdem bei No. 1 und 10 verhältnismäßig frühzeitig, und zwar bei No. 6, 10 und 17 am 5. Tage, bei No. 1, 3 + 4 am 7. Tage und bei No. 11 am 8. Tage erreicht.

Bemerkenswert erscheint noch, daß sämtliche Organismen in der benutzten mineralischen Nährlösung viel besser als in der Hayduckschen wuchsen, und zwar nach den fortlaufenden Beobachtungen, solange die Kulturen nicht durch Umschütteln gestört wurden, in der gewohnten charakteristischen Weise, also die typischen Hautbildner No. 3 + 4, 15, 17, 11, 6, 10, 2, 16, 9, 12 mit rascher Hautentwickelung. So war bei No. 3 + 4 die Flüssigkeitsoberfläche schon am 3. Tage von einer ziemlich starken Haut überzogen, bei No. 9, 12, 15 und 16 hatten sich die kräftig und normal entwickelten Hautinselchen schon fast völlig aneinander angeschlossen. Die Art No. 8, welche in Würze eine Haut nur langsam entwickelt, hatte in der benutzten Nährlösung am 3. Tage eine geschlossene, schwache Haut gebildet.

Wenn auch durch das wiederholte Umschütteln die Vegetation in ihrer normalen und charakteristischen Entwickelung gestört war, so kann doch immerhin das Bild, welches die Kulturen bei Abschluß des Versuches nach 11 Tagen darboten, einen Maßstab dafür abgeben, daß die Organismen in der Nährlösung einen guten Boden fanden. Außerdem bewies die mikroskopische Untersuchung, daß die Zellen auch in der mineralischen Nährlösung im allgemeinen die charakteristischen Merkmale zur Entwickelung brachten. Aus diesem Grunde möge hierauf und auf andere Beobachtungen näher eingegangen werden.

## Erste Gruppe.

No. 3 + 4. Schwache Haut, starke gleichmäßige Absätze. Deutlicher Geruch nach $H_2S$. Zellen in guter Verfassung, kugelförmig, vereinzelt keulenförmig, mit mäßig großer Vakuole. Ein scharf hervortretendes Oelkörperchen. Kein Glykogen.

No. 6. Ziemlich starke Vegetation im gleichmäßigen Bodensatz. Kein $H_2S$-Geruch. Viele tote Zellen, die übrigen in guter Verfassung, nur kugelförmige. Ein Oelkörperchen. Kein Glykogen.

No. 17. Mäßiger, gleichmäßiger Absatz. Kein $H_2S$-Geruch. Zellen in sehr guter Verfassung. Nur kugelförmige Zellen mit mäßigem Glykogengehalt. Ein scharf hervortretendes Oelkörperchen.

No. 11. Mäßiger, gleichmäßiger Absatz. Deutlicher $H_2S$-Geruch. Zellen in sehr guter Verfassung, nur kugelförmige mit mäßig großer Vakuole. Ein scharf hervortretendes Oelkörperchen. Kein Glykogen.

No. 5. Flüssigkeit trübe, fadenziehend. Sehr deutlicher $H_2S$-Geruch.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Zellen in guter Verfassung, kugelförmig und ellipsoidisch. Krystalloid und Oelkörperchen. Ziemlich starke Glykogenreaktion.

No. 7. Vegetation im gleichmäßigen Bodensatz ziemlich stark. Deutlicher $H_2S$-Geruch. Nur kugelförmige Zellen mit sehr vielen Vakuolen und Granulis. Kein Glykogen.

No. 8. Sehr schwache Haut. Mäßiger, gleichmäßiger Absatz. Kein $H_2S$-Geruch. Nur kugelförmige und ellipsoidische Zellen mit reich vakuolisiertem Inhalt und sehr vielen Granulis. Höchstens sehr schwache Glykogenreaktion.

## Zweite Gruppe.

No. 1. Geringe Hautbildung. Starker, flockiger Absatz, dessen Zellen sehr fest aneinander haften. Deutlicher Geruch nach $H_2S$. Zellform gemischt. Zellen in guter Verfassung. Oelkörperchen nicht hervortretend. Keine Glykogenreaktion.

No. 9. Schwache Haut. Mäßiger, gleichmäßiger Absatz. Deutlicher $H_2S$-Geruch. Zellform gemischt, vorherrschend gestreckt. Zellen in sehr guter Verfassung. Ein kleines Oelkörperchen häufig scharf hervortretend. Kein Glykogen.

No. 10. Mäßiger, gleichmäßiger Absatz. Kaum $H_2S$-Geruch. Zellform gemischt, vorherrschend kugelförmige und ellipsoidische Zellen in sehr guter Verfassung. Oelkörperchen nicht scharf hervortretend. Kein Glykogen.

No. 2. Mäßiger, flockiger Absatz, dessen Zellen sehr fest aneinander haften. Geringe Ringbildung. Sehr deutlicher $H_2S$-Geruch. Zellen in guter Verfassung. Zellform gemischt. Oelkörperchen und Kristalloide. In vereinzelten Zellen sehr schwache Glykogenreaktion.

No. 15. Keine Haut. Ziemlich starker, feinflockiger Absatz. Starker $H_2S$-Geruch. Zellformen gemischt. Zellen in sehr guter Verfassung. Ein scharf hervortretendes kleines Oelkörperchen. Mäßige Glykogenreaktion.

No. 16. Starker, grobflockiger Absatz. Geringe Ringbildung. Sehr deutlicher $H_2S$-Geruch. Zellform gemischt. Zellen in weniger guter Verfassung, Plasma stark granuliert. Kein Glykogen.

## Dritte Gruppe.

No. 12. Ziemlich starker, flockiger Absatz. Deutlicher $H_2S$-Geruch. Zellform gemischt. Vorherrschend langgestreckte, spindelförmige Zellen mit größeren und kleineren Vakuolen. Zellen in guter Verfassung. Oelkörperchen und Kristalloide. Kein Glykogen.

Die von einzelnen Arten entbundenen, verhältnismäßig großen Schwefelwasserstoffmengen scheinen auf die Zellen nicht schädigend einzuwirken, wenigstens ist eine regelmäßige Beziehung zwischen der Beschaffenheit der Zellen und der Schwefelwasserstoffbildung nicht ersichtlich. Allerdings hatten die Zellen der Art No. 16, welche die größten Mengen von Schwefelwasserstoff entwickelten, auch das schlechteste Aussehen, befanden sich dagegen bei No. 2, 12 und 15, welche ebenfalls ein stärkeres Schwefelwasserstoffbildungsvermögen besitzen, in guter Verfassung. Bei der Art No. 6 dagegen, bei welcher die Reaktion bedeutend geringer ausfiel, fanden sich viele tote Zellen.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Meinem früheren Mitarbeiter, Herrn Richard Braun, welcher mich bei den mitgeteilten Untersuchungen unterstützte, möchte ich auch an dieser Stelle hierfür meinen wärmsten Dank zum Ausdruck bringen.

## Tafelerklärung.

Tafel I—III. Riesenkolonieen auf 10-proz. Würze-, Kartoffelwasser- und Rübenwassergelatine.

### Erste Gruppe. Tafel I und II. Fig. 1—15.

Fig. 1—2. No. 3. Fig. 1. Würzegelatine. 35 Tage alt. 20° C.
Fig. 2. Rübenwassergelatine 20 Tage alt. 20° C.
Fig. 3. No. 4. Kartoffelwassergelatine. 92 Tage alt. 15° C. Auf der Oberfläche der Riesenkolonie sehr stark entwickelte „warzige Erhebungen".
Fig. 4—6. No. 6. Fig. 4. Würzegelatine. 56 Tage alt. 20° C.
Fig. 5. Kartoffelwassergelatine. 42 Tage alt. 14° C.
Fig. 6. Rübenwassergelatine. 42 Tage alt. 14° C.
Fig. 7—8. No. 17. Fig. 7. Würzegelatine. 74 Tage alt. 15° C.
Fig. 8. Kartoffelwassergelatine. 35 Tage alt. 20° C.
Fig. 9—11. No. 11. Fig. 9. Würzegelatine. 67 Tage alt 20° C.
Fig. 10. Kartoffelwassergelatine. 54 Tage alt. 20° C.
Fig. 11. Rübenwassergelatine. 56 Tage alt. 20° C.
Fig. 12—13. No. 5. Fig. 12. Würzegelatine. 48 Tage alt. 15° C.
Fig. 13. Rübenwassergelatine. 54 Tage alt. 20° C.
Fig. 14. No. 7. Rübenwassergelatine. 35 Tage alt. 20° C.
Fig. 15. No. 8. Kartoffelwassergelatine. 42 Tage alt. 14° C.

### Zweite Gruppe. Tafel II und III. Fig. 16—27.

Fig. 16—18. No. 1. Fig. 16. Würzegelatine. 44 Tage alt. 20° C.
Fig. 17. Kartoffelwassergelatine. 54 Tage alt. 20° C.
Fig. 18. Desgl. 92 Tage alt. 15° C.
Mit eingelagerten großen Kristallen. Auch auf der Unterseite der Riesenkolonie (am Rand sichtbar) Kristalle, welche rhizoidengleiche Anhänge vortäuschen.
Fig. 19. No. 9. Würzegelatine. 77 Tage alt. 14° C.
Fig. 20—21. No. 10. Fig. 20. Würzegelatine. 51 Tage alt. 14° C.
Fig. 21. Kartoffelwassergelatine. 54 Tage alt. 20° C.
Fig. 22—23. No. 2. Fig. 22. Würzegelatine. 48 Tage alt. 15° C.
Fig. 23. Rübenwassergelatine. 68 Tage alt. 14° C.
Fig. 24—25. No. 15. Fig. 24. Würzegelatine. 44 Tage alt. 20° C.
Fig. 25. Rübenwassergelatine. 68 Tage alt. 14° C.
Fig. 26—27. No. 16. Fig. 26. Würzegelatine. 48 Tage alt. 15° C.
Fig. 27. Kartoffelwassergelatine. 42 Tage alt. 14° C.

### Dritte Gruppe. Tafel III. Fig. 28—30.

Fig. 28. Würzegelatine. 16 Tage alt. 15° C.
Fig. 29. Desgl. 48 Tage alt. 15° C.
Fig. 30. Rübenwassergelatine. 26 Tage alt. 20° C.

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

*Nachdruck verboten.*

# Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft,

## nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich (Vorstand: Prof. Dr. R. Burri).]

Von **Leo Müller.**

(Schluß.)

Mikroskopischer Befund.

| | Stamm VIIa. | Stamm VIIb. |
|---|---|---|
| Peptonschotte. | Neigung zur Kettchenbildung; Kettchenglieder 0,8—1 × 0,6—0,7 μ, dabei immer noch sichtbare Spitzchen oder sehr scharfe Abschnürung; auch zu zweien vorkommend, 1,2 × 0,8—0,9 μ | Ebenfalls Kettchenbildung, 0,9 × 0,6—0,7 μ; Spitzchen nicht so ausgeprägt wie bei den Doppelstäbchen, 0,9—1,2 × 0,6—0,9 μ |
| Nährbouillon. | Neben 6—8-gliederigen Kettchen typische Doppelstäbchen, 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ, mit schönen Spitzchen | Meist bröckelig angeordnet, 0,7 × 0,6—0,7 μ. Doppel- und Einzelindividuen |
| Milch bei 20, 30 und 37°. | Gleiche Form und Dimensionen wie in Milchzuckeragar (H. Sch.) | Wie VIIa |

(Folgt Tabelle VII p. 714, 715.)

### VIII. und IX. Güntheri aus fadenziehender Milch und Güntheri-ähnlicher Organismus aus Mazun.

#### a) Bacterium Güntheri aus fadenziehender Milch.

Dieser sich morphologisch und kulturell vom gewöhnlichen Güntheri nicht unterscheidende Typus besitzt resp. besaß die Eigenschaft, eine bei 37—40° aufgestellte frische Milch unter mehr oder weniger starker Serumausscheidung fadenziehend zu machen. Er wurde anläßlich einer schweren Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei von Herrn Prof. Burri aus schleimig gewordener Molke isoliert und nach eingehenden Untersuchungen als Erreger der betreffenden Erscheinung bezeichnet. Nach Burri (7) kann dieser schleimbildende Organismus schon in der frisch gemolkenen Milch enthalten sein, und zwar auch dann, wenn sie unter möglichster Verhütung der Infektion direkt in sterile Gefäße aufgefangen wird. Als Sitz der Schleimbildung darf also das Euterinnere, wenigstens der Zitzenkanal, bezeichnet werden. Wenn auch einerseits die nähere Verfolgung dieses merkwürdigen Güntheri nach den eingehenden Untersuchungen Burris nicht mehr notwendig schien, fanden wir doch den in Frage stehenden Organismus für unsere vergleichenden Untersuchungen sehr zweckdienlich, um so mehr, als ja vermutet werden konnte, die verloren gegangene Eigenschaft des „Fadenziehenwerdens“ unter gewissen Züchtungsbedingungen vielleicht wieder auftreten zu sehen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

**Physiologisches Verhalten der Güntheri-ähnlichen Organismen**

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur

| Stamm VIIa | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | |
| 20° | 48 Std. | Fast geronnen, ohne Serumausscheidung | 2,6 | 40 Std. | Ziemlich fest geronnen | 4,3 | |
| 30° | 24 „ | Etwas flüssig in den oberen Partieen | 6,4 | 17 „ | Fest geronnen, Serumabscheidung | 3,9 | |
| 37° | 30 „ | Flockig geronnen, Beginn der Peptonisierung | 7,5 | 18 „ | Geronnen, mit starker Serumabscheidung | 4,5 | |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 2,8 | |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 16,6 | |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der ge-

| Stamm VIIa | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 | |
| Dextrose | Diffuse Trübung 4; starker, flockig-schleim. Bodensatz | Typische Güntheri, gruppenweise angeordnet | 8,1 | 11,6 | 11 | 11 | |
| Lävulose | Diffuse Trüb. 3—4; starker, flockig-schleim. Bodensatz | Wie oben | 7,7 | 12,5 | 10,6 | 11 | |
| Laktose | Wie oben | Wie oben | 2,4 | 8 | 6,6 | 7 | |
| Maltose | Wie oben | Wie oben | 6,5 | 9,5 | 8,4 | 8,4 | |
| Saccharose | Wie oben | Wie oben | 5 | 6 | 5 | 5 | |
| Arabinose | Diffuse Trübung 2; feinflockiger Bodensatz | Typische Güntheri | 0,9 | 1,8 | 1,4 | 1,2 | |
| Mannit | Diffuse Trübung 4; starker, flockig-schleim. Bodensatz | Typische Güntheri, auch gruppenweise angeordnet | 5,2 | 5,3 | 5 | 5 | |
| Glycerin | Diffuse Trübung 2; schleimig-flockiger Bodensatz | Typische Güntheri | 2,5 | 4,5 | 4,4 | 4,4 | |

b) Bacterium Güntheri-ähnlicher Organismus aus Mazun.

Düggeli (10) isolierte aus dem armenischen Mazun nebst Hefen und langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien einen dem Bacterium Güntheri ähnlichen Organismus, der uns infolge seines eigentümlichen kulturellen und morphologischen Verhaltens für unsere Untersuchungen sehr geeignet erschien. Genannter Forscher konnte zum Unterschied von Güntheri in den Stichkulturen immer eine deutliche Oberflächen-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VII.
von an Sauerbrut erkrankten Bienenlarven stammend.
in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.

| Stamm VIIb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 48 Std. | Schwach fließend geronnen | 2,3 | 48 Std. | Schwach fließend geronnen | 7,5 |
| 24 „ | Dickflüssig geronnen | 6,2 | 22 „ | Mit Serumausscheidung geronnen | 3,9 |
| 30 „ | Flockig geronnen, Beginn der Peptonisierung | 5,5 | 18 „ | Mit starker Serumausscheidung geronnen | 7,1 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 2,6 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 15,7 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
impften Gläschen im 30°-Schranke.

| Stamm VIIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Wie VIIa | Typische Güntheri, gruppenweise angeordnet | 7,9 | 8,2 | 9 | 8,4 |
| Lävulose | Wie VIIa | Wie oben | 8,3 | 10,8 | 9,6 | 9 |
| Laktose | Wie VIIa | Typische Güntheri, kleine Kettchen, bröckel. Anordnung | 5,1 | 7,3 | 5,4 | 5,2 |
| Maltose | Wie VIIa | Sehr schöne Güntheri | 6,6 | 7,8 | 8,4 | 8 |
| Saccharose | Wie VIIa | Desgl. | 3,2 | 5,6 | 5 | 4,8 |
| Arabinose | Wie VIIa | Sehr schöne kleine Doppelstäbchen | 0,9 | 1,8 | 1,4 | 1,4 |
| Mannit | Wie VIIa | Sehr schöne Güntheri | 4 | 5,8 | 5 | 5,2 |
| Glycerin | Diffuse Trübung 4; starker, schleimig-flockiger Bodensatz | Typische Güntheri | 2,6 | 5,1 (4,5) | 4,2 | 4,4 |

ausbreitung wahrnehmen; auch das morphologische Bild dieses aus Mazun isolierten Organismus war je nach Nährboden und Temperatur ein sehr variables. Neben typischen Güntheri-Formen fanden sich besonders in Peptonschotte Ketten bis zu 20 Gliedern, sich dabei in keiner Weise von den Streptokokken unterscheidend. Während uns für den morphologischen und kulturellen Teil unserer Untersuchungen ein streptokokkenähnlich wachsendes Güntheri zur Verfügung stand, mußte dieses für die physiologischen Versuche, weil durch einen Schimmelpilz verunreinigt,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch eine neue Reinkultur des gleichen Organismus ersetzt werden, der sich in der Folge als typisches Bacterium Güntheri auswies.

NB. Die Nebeneinanderstellung der Stämme VIII und IX ist eine rein zufällige und nicht etwa in besonders engen Verwandtschaftverhältnissen begründete.

| Fadenziehende Güntheri. | Güntheri aus Mazun. |
|---|---|
| **Kulturelles Verhalten.** | |
| Stamm VIII. | Stamm IX. |
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, Kolonieen je nach Verdünnung $^3/_4$ mm D. | Wie VIII |
| Molkengelatineplatten bei 20°. Ziemlich regelmäßige, rundliche, braungraue Kolonieen, durchschnittlich 0,3 mm D. | Unregelmäßige, leicht gefranste, grobkörnige Kolonieen, bis 0,6 mm D. |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Meist unregelmäßige, nicht sehr scharf begrenzte Kolonieen von braungrüner Farbe | Rundliche, scharf konturierte, gelbrote Kolonieen mit körnigem Inhalt, 1 bis 1,5 mm D. |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten gleich starkes Wachstum in Form eines kräftigen, oben scharf abgeschnittenen Fadens | Kräftiges Wachstum von oben bis unten, 3 mm große, gelappte Oberflächenausbreitung |
| Molkengelatinestich bei 20°. Von oben bis unten gleich starkes Wachstum in Form eines ziemlich lockeren Fadens; keine Oberflächenausbreitung | Wie VIII |
| Kartoffel bei 30°. Ziemlich kräftiges Wachstum in Form einer dichten schwarzbraunen Auflagerung | Sehr starkes Wachstum in Form eines $1^1/_2$ cm breiten, dichten, weißen Belages |
| Peptonschotte bei 30°. Sehr starke flockige Trübung, starker Bodensatz, kein Ring | Starke Trübung, sehr starker Bodensatz, schwache Decke und Ring |
| Nährbouillon bei 30°. Mittelstarke Trübung, schwacher Bodensatz | Sehr starke Trübung, schleimiger Bodensatz und Andeutung von Ring, schleimige Decke |
| **Mikroskopischer Befund.** | |
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Sehr typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen, $1{,}2 \times 0{,}8$—$0{,}9$ μ | Doppelstäbchen hie und da Spitzchen zeigend, $1$—$1{,}2 \times 0{,}9$—$1$ μ; daneben sehr häufig Einzelindividuen von oft unregelmäßiger Form bis $2{,}8 \times 1{,}2$ μ oder dann $1{,}1 \times 0{,}9$ μ |
| Molkengelatineplatten. Schöne Doppelstäbchen, $1{,}1 \times 0{,}8$—$0{,}9$ μ, mit Spitzchen, daneben Einzelindividuen $1 \times 0{,}9$ μ | Typische Doppelstäbchen, $1{,}1 \times 0{,}6$—$0{,}7$ μ; daneben auch Einzelstäbchen, $1{,}8 \times 0{,}9$ μ |
| Peptonschottenagarplatten. Wie oben | Kettchenförmiges Wachstum. Kettchenglieder $0{,}8$—$0{,}9 \times 1{,}2$ μ |
| Milchzuckeragarstich. Doppelstäbchen $1$—$1{,}2 \times 0{,}8$—$0{,}9$ μ, ohne typische Spitzchen; unregelmäßig geformte Einzelstäbchen, $1$—$3 \times 0{,}9$—$1{,}2$ μ | Meist Doppelstäbchen mit Spitzchen, $0{,}9$—$1{,}2 \times 0{,}6$—$0{,}8$ μ, daneben auch solche von $1{,}5 \times 1{,}2$ μ. Einzelstäbchen von unregelmäßiger Form, $0{,}9$—$1{,}7 \times 0{,}7$ μ |
| Molkengelatinestich. Wie oben | Wie VIII |
| Kartoffel. Einzel- und Doppelstäbchen $0{,}6$—$1 \times 0{,}5$—$0{,}9$ μ, keine Spitzchen, mitunter kokkenähnliche Gebilde | Stäbchen meist einzeln, von ziemlich unregelmäßiger Gestalt, $0{,}5$—$0{,}7 \times 0{,}4$—$0{,}6$ μ, daneben auch Doppelstäbchen mit Spitzchen, $0{,}7$—$0{,}8 \times 0{,}5$ μ |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| Peptonschotte. Doppelstäbchen mit Spitzchen, 0,9—1 × 0,6—0,7 μ, auch hie und da einzeln | Meist in Ketten von 30 Gliedern vorkommend, die einzelnen Kettenglieder entweder so lang wie breit, 1,2 × 1,1—1,2 μ, oder dann länger wie breit, 2 × 1,2 μ; keine Spur von Spitzchen vorhanden |
| Nährbouillon. Meist in Kettchen von 6—10 Gliedern, 0,9—1 × 0,8—1 μ, ohne Spitzchen; mit sehr scharfer Einschnürung; auch einzeln in obigen Dimensionen vorkommend, hie und da Doppelstäbchen mit Spitzchen | Fast Planosarcinaform, 1—1,1 × 1,2 μ zu vieren, zu zweien und einzeln vorkommend |
| Milch bei 20°, 30° und 37°. Typische Doppelstäbchen mit Spitzchen, 0,7—1 × 0,5—0,7 μ | 8—10-gliedrige Kettchen, Glieder 0,9—1 × 0,7 μ |

(Folgt Tabelle VIII und IX p. 718, 719.)

### X. Güntheri aus Exkrementen einer erkrankten Schmetterlingsraupe (Smerinthus populi).

Es handelt sich hier um Güntheri-Stämme, die von Prof. Burri gelegentlich einer epidemischen Krankheit isoliert worden waren, welche in den Smerinthus-Beständen von Prof. Dr. Standfuss im Herbst 1905 großen Schaden verursachte. Während der eigentliche Krankheitserreger in einem Sporenbildner zu erblicken war, hatten sich Vertreter der Güntheri-Gruppe wohl als sekundäre Erscheinung in den Verdauungswegen der Raupen angesammelt. Da es sich hier wahrscheinlich um die dem Futter anhaftenden und damit in die Verdauungswege gelangten Güntheri handelte, fanden wir es nicht für notwendig, diese auf ihre kulturellen und morphologischen Merkmale näher zu prüfen, um so mehr, als ja vermutet werden konnte, daß sie von den aus Gras isolierten und eingehend beschriebenen Stämmen wenig oder gar nicht abweichen würden. Wir begnügten uns in der Folge, das kulturelle und morphologische Verhalten in Milchzuckeragarstich festzustellen, um dann eine größere Aufmerksamkeit dem physiologischen Verhalten zuzuwenden.

Kulturelles Verhalten und mikroskopischer Befund.

| Stamm Xa. | Stamm Xb. |
|---|---|
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten gleichmäßig starkes Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie Xa |
| Doppelstäbchen 0,8—1 × 0,6—0,8 μ mit Spitzchen oder dann wenigstens sehr scharfer Einschnürung, daneben viele 6—8-gliedrige Kettchen, die einzelnen Glieder entweder ganz rund oder dann ein wenig länglich mit kleinen Spitzchen | Doppelstäbchen meist 0,9—1,1 × 0,7—0,8 μ mit Spitzchen, daneben auch Einzelstäbchen von denselben Dimensionen, lanzettförmig zugespitzt |
| Milch bei 20°, 30° und 37° zeigt typische Güntheri | Wie Xa |

(Folgt Tabelle X p. 720, 721.)

## D. Untersuchung weiterer Güntheri-Stämme, mit besonderer Berücksichtigung der Variabilität des Säurebildungsvermögens.

Im Herbst 1905 suchten wir aus Gras und Kuhkot Güntheri zu isolieren, die eine bei 30° aufgestellte Milch innerhalb 3 × 24 Stunden **nicht** zum Gerinnen brachten. Es handelte sich darum, solche Vertreter unserer Bakterienart zu gewinnen, die infolge der Existenz auf zuckerarmen Medien ein wenig entwickeltes Gärvermögen zeigten, ohne daß

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri aus fadenziehender

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur

| Stamm VIII | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mai 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 4 Tage | Feinflockig bis gallertig geronnen | 11,8 | 3½ Tag | Schwach fließend geronnen | 10 |
| 30° | 24 Std. | Desgl. | 7,2 | 26 Std. | Dünnflüssig geronnen | 7,5 |
| 37° | 24 „ | Desgl. | 7,6 | 17 „ | Desgl. | 6,4 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | | 6,6 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | | 6,9 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm VIII | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 05 | 4. Best. Jan. 05 |
| Dextrose | Diff. Trübung 4, sehr starker flockig-schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri nebst kleinen 4—6-gliedr. Kettchen | 11 | 14,5 (12,5) | 12 | 12 |
| Lävulose | Wie oben | Neben gruppenweise angeordn. Güntheri auch kleine Kettchen | 10,5 | 11 | 11,4 | 11,4 |
| Laktose | Wie oben | Wie oben | 5,5 | 8,5 (7,5) | 7,4 | 7,4 |
| Maltose | Diff. Trübung 3, starker griesig-flock. Bodensatz | Typ. Güntheri | 7,5 | 8,5 | 8,8 | 8,6 |
| Saccharose | Diff. Trübung 2, typischer flock.-sshleimiger Bodensatz | Sehr schöne Güntheri | 0 | 0,5 | 0 | 0 |
| Arabinose | Diff. Trübung 2, schwach. flockig schleimiger Bodensatz | Typ. Güntheri | 0 | 1,2 | 1,2 | 1,2 |
| Mannit | Diffuse Trübung 1—2, schwacher schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri und kleine Kettchen vorkommend | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Wie oben | Wie oben | 0 | 0 | 0,6 | 0,6 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VIII und IX.
Milch und Güntheri-ähnlicher Organismen aus Mazun.
in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.

| Stamm IX | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Oktober 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20 Tage | Dickflüssig geronnen | 11,5 | 8 Tage | Dünnflüssig geronnen | 11 |
| 3 „ | Fest geronnen | 8,1 | 40 Std. | Schwach fließend geronnen | 7 |
| 24 Std. | Fest geronnen, mit schwachem Serumring | 6,7 | 40 „ | Desgl. | 6 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 4 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 6,3 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
geimpften Gläschen im 30°-Schrank.

| Stamm IX | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diff. Trübung 3—4, sehr starker flock. Bodensatz | Typ. Güntheri neben kleinen 4—6-gliedrigen Kettchen | 11 | 11 | 11 | 11,4 |
| Lävulose | Diff. Trübung 4, sehr starker flockig-griesiger Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 11,5 | 14 | 10,2 | 10,2 |
| Laktose | Diff. Trübung 3, schmutz.-gries. Wandbelag, ebensolcher starker Bodensatz | desgl. | 6,8 | 8,5 | 6,8 | 7 |
| Maltose | Wie oben | „ | 9,4 | 10 (12) | 8 | 8,2 |
| Saccharose | Trübung 1, typisch schleimig. Bodensatz | „ | 0 | 0,3 | 0 | 0 |
| Arabinose | Trübung 1, schwacher schleimiger Bodensatz | Typ. Güntheri | 0 | 1,1 | 1,2 | 1 |
| Mannit | Wie oben | Neben typischen Güntheri auch kleine Kettchen | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Trübung 2, typischer schleimiger Bodensatz | Wie oben | 0 | 0,6 | 0,8 | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri aus Exkrementen einer

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm Xa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Oktober 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | — | — | — | 14 Tage | Schwach fließend geronnen | 8,3 |
| 30° | — | — | — | 72 Std. | „ „ „ | 6 |
| 37° | — | — | — | 50 „ | „ „ „ | 5 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm Xa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trübung, starker schmutzig-griesiger Bodensatz | Typische Güntheri | 7,3 | 12,5 (11,5) | 12 | 12 |
| Lävulose | Diffuse Trübung, sehr starker flockig-griesiger Bodensatz | Desgl. | 7 | 11,5 (8,5) | 5 | 5,4 |
| Laktose | Wie oben | „ | 3,4 | 8,7 (6,3) | 5 | 5,4 |
| Maltose | Desgl. | „ | 3,7 | 8,5 (6,7) | 5 | 5 |
| Saccharose | Trübung 2, sehr starker schleimig-flockiger Bodensatz | „ | 4,2 | 4,5 (8,3) | 6 | 5,8 |
| Arabinose | Trübung 2—3, stark. flockig-schleimiger Bodensatz | „ | 4,2 | 7,2 (5) | 5,4 | 5,6 |
| Mannit | Trübung 3, sehr starker schmutzig-flockiger Bodensatz | | 2,3 | 6,5 (3,8) | 3,6 | 3,4 |
| Glycerin | Trübung 2, schwach. schleim. Bodensatz | „ | 0.9 | 1,3 | 0,6 | 0,8 |

sie die übrigen charakteristischen Artmerkmale vermissen ließen. Die mit Hilfe von Molkengelatineplatten in bekannter Modifikation isolierten Güntheri entsprachen unseren Anforderungen vollauf, indem die beiden aus Gras stammenden die Milch erst nach 8 Tagen zum Gerinnen brachten, die beiden aus Kuhkot stammenden die Gerinnung gar nicht resp. erst nach 4 Tagen herbeiführten. Da anzunehmen war, diese frisch aus Gras isolierten Stämme würden sich kulturell und morphologisch von den im Sommer isolierten nicht wesentlich unterscheiden, so begnügten wir uns nach dieser Richtung hin mit einer abgekürzten Untersuchung, um dafür dem physiologischen Verhalten eine um so größere Aufmerksamkeit zu widmen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

X.
**erkrankten Schmetterlingsraupe (Smerinthus populi).**
**Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.**

| Stamm Xb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Oktober 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| — | — | — | — | Nicht geronnen | — |
| — | — | — | 12 Tage | Schwach fließend geronnen | 5,5 |
| — | — | — | 6 „ | „ „ „ | 4,7 |

**Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.**
geimpften Gläschen im 30°-Schrank.

| Stamm Xb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Griesig diffuse Trübung 3, sehr stark. schmutzig-griesiger Bodensatz | Typische Güntheri | 5,7 | 7,8 (12,1) | 6,6 | 6,4 |
| Lävulose | Griesige Trübung 2, starker griesig-flockiger Bodensatz | Desgl. | 5,9 | 11,5 | 6,6 | 7,2 |
| Laktose | Diff. Trübung 3—4, starker, flockig-schleim. Bodensatz | „ | 4,5 | 8 (5,3) | 4,8 | 4,4 |
| Maltose | Diffuse Trübung 4, starker, schleimig-flockiger Bodensatz | „ | 5,2 | 10,2 (7) | 5,6 | 5,8 |
| Saccharose | Wie oben | „ | 4,3 | 8,3 (4,5) | 4,6 | 4,8 |
| Arabinose | Diffuse Trübung 2, schwacher, flockig-schleim. Bodensatz | „ | 4,9 | 8 (5) | 4,6 | 4,8 |
| Mannit | Diffuse Trübung 4, starker, schleimig-flockiger Bodensatz | „ | 3,9 | 6,4 (3,8) | 4 | 3,6 |
| Glycerin | Trübung 3, schwach flockiger Bodensatz | „ | 1 | 1,4 | 1,2 | 1,4 |

Es schien uns lohnend, durch Anwendung entsprechender Nährböden die Variabilität des Säurebildungsvermögens zu verfolgen und zu zeigen, daß eine Schwächung, ja selbst ein scheinbares Fehlen dieser Eigenschaft keineswegs zur Einreihung in eine neue Art berechtigt. Zu dem Zwecke impften wir während einer längeren Periode je wöchentlich zweimal alle aus Gras und Kuhkot stammenden Güntheri einerseits in einer zuckerarmen, dem ursprünglichen Milieu nicht allzufern stehenden Nährflüssigkeit, andererseits in Milch weiter, um dann nach einer bestimmten Frist uns an Hand von Säurebestimmungen über den Rückgang resp. die Steigerung des Säurebildungsvermögens Rechenschaft geben zu können.

Das Auffinden eines zuckerarmen, aber dennoch für Güntheri



Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

geeigneten Nährbodens schien uns anfänglich Schwierigkeiten bereiten zu wollen; in Heudekokt, selbst wenn diesem 0,1 Proz. Pepton und Spuren von Zucker beigefügt waren, schienen die Kulturen nur ein kümmerliches Dasein zu fristen und gingen, wenn überhaupt Wachstum eintrat, schon nach 3—4 Tagen wieder ein, ein Umstand, der uns auf die Suche nach einem besser geeigneten Nährboden führte. Wir probierten es in der Folge mit einem ziemlich konzentrierten Kohldekokt, den wir uns in der Weise herstellten, daß wir 500 g Kohl mit einem ebenso großen Quantum Wasser während $^3/_4$ Stunden bei $^1/_2$ Atm. Ueberdruck im Autoklaven auszogen, den durch mehrmalige Filtration ziemlich klar gewordenen Absud ohne weiteren Zusatz zu 10 ccm in Gläschen abfüllten, sterilisierten und mit den verschiedenen Stämmen beschickten. In allen Fällen trat üppiges Wachstum ein, die eingeimpften Güntheri boten ein normales Aussehen, so daß bei wöchentlich zweimaligem Ueberimpfen an diesem neuen Nährboden festgehalten werden konnte.

Durch die vergeblichen Vorarbeiten hat unser Versuch leider eine erhebliche Kürzung erfahren, indem er erst am 10. Dezember 1905 begonnen werden konnte und wir uns genötigt sahen, aus äußeren Gründen schon Ende Februar damit abzuschließen. Wenn trotzdem durchweg positive Resultate zutage gefördert wurden, so spricht dies um so mehr dafür, daß das Gärvermögen der Güntheri eine überaus variable Eigenschaft bedeutet, die sich durch kulturelle Maßnahmen in bestimmtem Sinne beeinflussen ließ.

### XI. Güntheri mit schwachem Gärvermögen aus Gras.

#### Kulturellles Verhalten.

| Stamm XIa. | Stamm XIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Die Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, Kolonieen je nach Verdünnung bis $^3/_4$ mm D. | Wie XIa |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Kräftiges Wachstum in Form eines oben scharf abgeschnittenen Fadens | Wie XIa |

#### Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) Doppelstäbchen entweder 1,2 × 0,9 μ, mit nur sehr kleinen Spitzchen oder dann 1 × 1 μ ohne Spitzchen; Einzelstäbchen 0,8—1 × 0,8—1 μ | Typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen 1,2—1,3 × 0,9 μ; daneben auch Einzelstäbchen |
| Milchzuckeragarstich. Wie oben | |

(Folgt Tabelle XI p. 724, 725.)

### XII. Güntheri mit schwachem Gärvermögen aus Kuhkot.

#### Kulturelles Verhalten.

| Stamm XIIa. | Stamm XIIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, Kolonieen je nach Verdünnung bis $^3/_4$ mm D. | Wie XIIa |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten gleich starkes, oben scharf abgeschnittenes Wachstum | Wie XIIa |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Meist in Form von Doppelstäbchen mit oder ohne Spitzchen, 1,1 × 0,8 μ, daneben auch Einzelindividuen, 0,9—1,2 × 0,8—1 μ | Doppelstäbchen mit oder ohne Spitzchen, 0,8—1,2 × 0,7—0,9 μ, daneben auch Einzelindividuen, 0,8—1,3 × 0,7—0,8 μ |
| Milchzuckeragarstich. Sehr schöne Güntheri, 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ, mit typischen Spitzchen | Neben typischen Güntheri mit Spitzchen, 1,2 × 0,9 μ, auch Involutionsformen, 2 × 1,2 μ, und kleine Kettchen |

(Folgt Tabelle XIIa und XIIb p. 726, 727, 728.)

## E. Untersuchung einiger typischer Streptokokkenstämme in Rücksicht auf ihre Verwandtschaftsverhältnisse zum Bacterium Güntheri.

Als Urheber des Gedankens einer Verwandtschaft zwischen dem Erreger der spontanen Milchgerinnung, dem Bacterium Güntheri und den Streptokokken darf wohl Kruse (28) bezeichnet werden. Wenn er sich auch nicht gerade direkt in dem Sinne aussprach, so dürfte doch seine im Verein mit Pansini im Jahre 1892 veröffentlichte Arbeit (Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae und verwandte Streptokokken) den Anstoß gegeben haben zu der sich in letzter Zeit immer mehr geltend machenden Ansicht, daß eine scharfe Grenze zwischen den eigentlichen Streptokokken und dem so häufig streptokokkenähnlichen Bacterium Güntheri sich nicht ziehen lasse. Unseres Wissens ist Kruse auch der erste gewesen, der obigem, wohl manchen Bakteriologen beschäftigenden Gedanken endlich Ausdruck zu geben wagte. In einer im Jahre 1903 erschienenen Publikation (l. c.) stellte dieser Forscher die Behauptung auf, daß der gewöhnliche Erreger der Milchsäuregärung zu den nächsten Verwandten der Pneumoniekokken oder Streptococcus lanceolatus gezählt werden müsse. Sein Schüler Hölling (22) ging dann schon so weit, seine zahlreichen, aus dem Kot von Säuglingen und Haustieren, sowie aus Milch isolierten Stämme ihrer großen Aehnlichkeit mit dem Streptococcus lacticus halber als Streptokokken zu bezeichnen. Da er zweifellos das gewöhnliche Bacterium Güntheri, zu streptokokkenartigen Wuchsverbänden angeordnet, vor sich hatte, ist dies begreiflich und verständlich; durch Beibehaltung der von Kruse eingeführten Bezeichnung „Streptococcus lacticus“ würde man ohne weiteres über die Stellung Höllings zur Verwandtschaftsfrage orientiert, wenn dies nicht schon zu Beginn seiner Abhandlung durch Hinstellen der Streptokokken als energische Milchsäurebildner der Fall gewesen wäre.

Zur weiteren Illustration der über die Stellung der Milchsäurebakterien zu den Streptokokken herrschenden Ansicht diene ferner, daß East (11) in 186 Milchproben 106mal Streptokokken mikroskopisch nachwies, Beck (4) 62 Proz. der untersuchten Berliner Marktmilch als mit Streptokokken infiziert bezeichnete und Gordan (15) die Milch an Kettenkokken so überreich fand, daß die Gesamtmenge aller übrigen Keime einschließlich der Säurebildner nur den zehnten bis hundertsten Teil der nachgewiesenen Streptokokkenkeime betrug. Da aber nach Petruschky, der seiner Zeit als erster mit solchen Befunden hervorgetreten war, jede streptokokkenreiche Milch als ein eiterähnliches Präparat zu bezeichnen ist, erblickte Gordan in der Verwendung solcher Milch als Säuglingsmilch eine große Gefahr. Nach dem bereits Gesagten bedürfen diese Befunde keines weiteren Kommentars; es liegt außer



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Güntheri

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm XIa | | | |
|---|---|---|---|
| Februar 1906 | | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 14 Tage | Nicht geronnen | — |
| 30° | 5 „ | Geronnen, schwach fließend | 6 |
| 37° | 64 Std. | „ „ „ | 7 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm XIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse griesige Trübung 3, schmutz. Wandbelag, gleicher, sehr starker Bodensatz | Gruppenw. angeordnete Güntheri | 9,7 | 12,5 (10,5) | 10 | 9,4 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 10,5 | 11 | 10,6 | 10,4 |
| Laktose | Desgl. | Desgl. | 5,6 | 8 (8,2) | 6,4 | 6,2 |
| Maltose | Desgl. | Desgl. | 7,4 | 8,9 | 7 | 7,2 |
| Saccharose | Diff. Trübung 2, schleim. Bodensatz | Typische Güntheri | 0 | 0,5 | 0 | 0 |
| Arabinose | Diffuse griesige Trübung und schmutzig-griesiger Wandbel., gleicher, sehr stark. Bodensatz | Desgl. | 5,5 | 8,8 (8) | 6 | 6,4 |
| Mannit | Wie oben | Desgl. | 2,3 | 5,2 (4,8) | 4,2 | 4 |
| Glycerin | Trübung 2, schwach. schleimiger Bodensatz | Kurze, 5—10-gliedr. Kettchen | 0 | 0,2 | 0,8 | 0,8 |

jedem Zweifel, daß es sich auch hier in 95 Proz. der Fälle um das gewöhnliche Bacterium Güntheri handelte.

Wir glaubten nun der angedeuteten Verwandtschaftsfrage am besten dadurch beizukommen, indem wir einen typischen Streptococcus auf irgend eine Art und Weise in unser Milchsäurebakterium überzuführen suchten.

Auf der Suche nach einem passenden Streptococcus trat uns als erstes Hindernis die Frage der Arteinheit der Streptokokken entgegen. Bekanntlich scheiden sich die Streptokokkenforscher in zwei Lager, wobei die einen für die Einheit, die anderen für die Verschiedenheit der Streptokokken plädieren. Da es nicht möglich ist, auf Grund des gegenwärtigen Standes der Forschung sich über die Frage ein ab-

Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

XI.
mit schwachem Gärvermögen aus Gras.
**Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.**

| Stamm XIb | | |
|---|---|---|
| Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 14 Tage | Geronnen, schwach fließend | 8 |
| 64 Std. | Ziemlich fest geronnen | 5,2 |
| 40 „ | Ziemlich fest geronnen mit schwachem Serumring | 5,5 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
geimpften Gläschen im 30° - Schrank.

| Stamm XIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diff. Trübung 3, schmutzig-griesiger Wandbel., gleicher, sehr stark. Bodensatz | In Gruppen angeordnete Güntheri | 8,8 | 10,5 | 8,2 | 8,4 |
| Lävulose | Wie oben | Desgl. | 8,3 | 9,5 | 8,2 | 8,6 |
| Laktose | Desgl. | „ | 5,2 | 5,3 | 6,6 | 6,4 |
| Maltose | Desgl. | „ | 6,4 | 5,7 | 7,2 | 6,8 |
| Saccharose | Diff. Trübung 3, feingries. Bodensatz | „ | 5,5 | 7,5 | 7,2 | 7 |
| Arabinose | Diffuse Trübung, schwach. schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri | 0 | 0,1 | 1 | 1,2 |
| Mannit | Wie Dextrose | Wie Dextrose | 3,2 | 5,2 | 4,8 | 4,4 |
| Glycerin | Trübung 3, ziemlich starker, griesig-flockiger Bodensatz | In Gruppen angeordnete Güntheri | 2,9 | 4,7 (3,4) | 3,6 | 4 |

schließendes Urteil zu bilden, so schien es geboten, unter den Streptokokken einen Typus zu wählen, der in seiner Lebensweise dem Bacterium Güntheri nicht allzu ferne steht. Ein solcher bot sich uns im Streptococcus agalactiae, dem Erreger des gelben Galts, einer bald sporadisch, bald epidemisch bei Kühen und Ziegen auftretenden Euterentzündung.

Der gelbe Galt ist eine schon seit mehr als 6 Dezennien bekannte Krankheit, die aber erst in den 80er Jahren von Nocard und Mollereau (34) näher studiert und beschrieben wurde. Diese Forscher waren die ersten, welche Streptokokken als Ursache der interstitiellen, kontagiösen Euterentzündung beobachteten. Die Arbeiten von Hess und Borgeaud (21), Bang (3), Lucet (35), Guillebeau (18),

Generated on 2019-09-21 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle

**Physiologisches Verhalten der Güntheri**

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur

| Stamm XIIa | | | |
|---|---|---|---|
| Februar 1906 | | | |
| Temperatur | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 14 Tage | Nicht geronnen | — |
| 30° | 14 „ | „ „ | — |
| 37° | 14 „ | „ „ | — |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der ge-

| Stamm XIIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Trübung 1—2, ausgeprägt schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri u. kleine Kettchen | 2,3 | 3,6 (3) | 3 | 3,4 |
| Lävulose | Trüb. 1—2, schwacher schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri | 2,5 | 3,5 | 3,2 | 3,4 |
| Laktose | Wie oben | „ „ | 2,4 | 3 | 3,2 | 3 |
| Maltose | Trübung 1, schwach flockiger Bodensatz | „ „ | 2 | 3,6 | 3,2 | 3 |
| Saccharose | Diffuse Trübung 3, schwacher flockiger Bodensatz | „ „ | 2,2 | 3 | 2,8 | 3 |
| Arabinose | Trüb. 1—2, schwacher flockiger Bodensatz | „ „ | 1 | 3,6 | 3,2 | 3 |
| Mannit | Wie oben | Typische Güntheri u. kleine Kettchen | 1,8 | 2,4 | 3,2 | 3,4 |
| Glycerin | Diffuse Trübung 1 | Typische Güntheri | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |

Zschokke (47), Klein (24) waren eine Bestätigung und Erweiterung der klassischen Untersuchungen dieser französischen Forscher. Im Jahre 1901 bereicherte Gröning (l. c.) die bereits vorhandene Streptokokkenliteratur mit einem Beitrage. Wir sind im allgemeinen mit den dort niedergelegten Resultaten einig, nur möchten wir an die getroffene Einteilung der Streptokokken eine Bemerkung knüpfen. Gröning teilt die Galtstreptokokken, die Streptokokken des Rinderdarmes und die aus dem Stallboden isolierten nach ihren morphologischen Wachstumsverhältnissen in

a) Streptococcus longus,

b) Streptococcus brevis

ein. Er wundert sich, daß trotz der außerordentlich großen Verbreitung, speziell des letzteren, im Kuhstall nicht mehr Eutererkrankungen vorkommen; er glaubt den Grund hierfür darin gefunden zu haben, daß die Streptokokken des Darmes und des Stallbodens gewöhnlich keine

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XIIa.
mit schwachem Gärvermögen aus Kuhkot.
mit sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.

| Stamm XIIb | | |
|---|---|---|
| Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 10 Tage | Dünnflüssig geronnen | 8,5 |
| 64 Stunden | Ziemlich fest geronnen | 7,5 |
| 40 „ | Ziemlich fest mit Serumring geronnen | 4 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
impften Gläschen im 30°-Schranke.

| Stamm XIIb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 06 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Trübnng 3, griesig schmutziger Wandbelag u. Bodensatz | In Gruppen angeordnete Güntheri | 7,8 | 12,5(11,3) | 9 | 9 |
| Lävulose | Wie oben | Desgl. | 7,3 | 12,4 (10) | 10 | 10 |
| Laktose | „ „ | Desgl. | 5,2 | 9,5 (7) | 8 | 8,2 |
| Maltose | „ „ | Desgl. | 6 | 10,5 (9) | 6,8 | 6,6 |
| Saccharose | Diffuse Trübung 4, sehr stark., schmutzig griesiger Wandbelag u. Bodensatz | Desgl. | 6 | 9 (9) | 6,6 | 7 |
| Arabinose | Diffuse Trübung 1-2 | Desgl. | 1,3 | 2,5 | 1,2 | 1,2 |
| Mannit | Diffuse Trübung 3 | Typische Güntheri | 3,4 | 4,4 | 4,4 | 4,4 |
| Glycerin | Diffuse Trübung 3-4, schwacher, flockig-schleimiger Bodensatz | Gruppenweise angeordnete Güntheri | 3 | 5 | 3,8 | 4 |

Zuckerfermente bilden und selten pathogen sind. Diese Schlußfolgerung ist nach den Voraussetzungen Grönings erklärlich; wir können aber nicht umhin, dazu unser Bedenken auszusprechen und gestützt auf die von Gröning selbst erhaltenen Resultate und unsere eigenen Untersuchungen die Streptokokkennatur seines Streptococcus brevis stark anzuzweifeln. Das eiförmige lanzettliche Aussehen, die zugespitzten Enden, sowie das verhältnismäßig häufige Vorkommen führen uns zu dem Schlusse, daß genannter Autor mit streptokokkenartigen Güntheri operierte, daß speziell die aus dem Rinderdarme und dem Stallboden isolierten kurzen Formen Güntheri waren, während die aus dem Stallboden stammenden langen Formen vielleicht unter Verhältnissen entnommen sein mögen, wo infolge Vorhandenseins euterkranker Kühe der Stallboden und die Stallrinnen mit wirklichen Streptokokken verunreinigt waren.

Stark (41) fand die Urheber der Erkrankungen der Milchdrüse in

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIIb.

**Feststellung der Variabilität des Säurebildungsvermögens aller aus Gras und Kuhkot isolierten Güntheri.**

Durchschnittliche Gerinnungszeit und Säuregrad (sofort nach der Gerinnung) bei Kultur in sterilisierter Milch bei 30°

| Stamm | Bei IV A, „ IV B, „ V A, „ V B: Mai 1905; Bei XI A, „ XI B, „ XII A, „ XII B: Oktober 1905 | | Februar 1906. Von Mai bezw. Oktober bis Dezember 1905 monatlich 1mal, von Dezember bis Februar 1906 wöchentlich 2mal in Milch weitergezüchtet | | Februar 1906. Von Mai bezw. Oktober bis Dezember 1905 monatlich 1mal in Milch, von Dezember bis Februar 1906 wöchentlich 2mal in Kohlblätterdekokt weitergezüchtet | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gerinnungszeit | Säuregrad | Gerinnungszeit | Säuregrad | Gerinnungszeit | Säuregrad |
| IVA aus Gras | 55 Std. | 6,7 | 64 Std. | 6,5 | 113 Std. | 6,6 |
| IVB „ „ | 72 „ | 7,4 | 40 „ | 7,8 | 81 „ | 7,4 |
| XIA „ „ | 192 „ | verunglückt | 120 „ | 6 | 222 „ | 5,5 |
| XIB „ „ | 192 „ | verunglückt | 64 „ | 5,2 | 90 „ | 6,2 |
| VA „ Kuhkot | 120 „ | 5,9 | 40 „ | 6 | 88 „ | 6,5 |
| VB „ „ | 144 „ | 5,6 | 64 „ | 5 | 113 „ | 5,2 |
| XIIA „ „ | — | — | — | — | 134 „ | 5 |
| XIIB „ „ | 96 „ | verunglückt | 64 „ | 7,5 | 87 „ | 7,2 |

— bedeutet Ausbleiben der Gerinnung.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß bei 6 von den 8 Stämmen bei Weiterzüchtung in Milch am Ende der Versuchsreihe eine Verkürzung der bis zur Gerinnung verstreichenden Zeit konstatiert werden konnte; bei IV A ist die Gerinnungszeit unwesentlich verlängert; Stamm XII A, welcher anfänglich die Milch überhaupt nicht zum Gerinnen brachte, zeigt dasselbe Verhalten auch nach mehrmonatlichem Weiterzüchten in Milch. Die an die Kultivierung in Milch anschließende Kultivierung in Kohldekokt hat nur bei den drei ersten Stämmen ungünstig gewirkt, insofern als sich die Gerinnungszeit verlängert erweist. Bei den übrigen erscheint sie mehr oder weniger verkürzt und bemerkenswerterweise hat die Kultivierung in Kohldekokt den Stamm XII A so günstig beeinflußt, daß er am Ende der Versuchsperiode im stande ist, die Milch, wenn auch langsam, zur Gerinnung zu bringen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Milchkanälen und den Alveolen, sowie dem Inhalt derselben beigemischt; stets konnte er auch ihre Anwesenheit im Zitzenkanale nachweisen. Das häufige kokken- und diplokokkenähnliche Aussehen der aus dem Zitzenkanale gesunder und kranker Viertel isolierten Pilze ruft uns die gleiche Vermutung wach, wie wir sie beim Streptococcus brevis von Gröning ausgesprochen haben.

Steiger (l. c.) konnte in denjenigen Fällen, wo die klinische Diagnose Galt sicher oder wahrscheinlich war, Streptokokken mikroskopisch und kulturell nachweisen. Seine Untersuchungen bestätigen die Angaben Grönings über morphologische, biologische und kulturelle Eigentümlichkeiten dieses für die Mastitiden so bedeutenden Mikroorganismus in vollem Umfange.

Lehmann und Neumann (l. c.) erblickten im Streptococcus agalactiae morphologisch einen bald kurzen, bald langkettigen Streptococcus pyogenes, bezeichneten ihn sogar als eine biologische Rasse desselben.

Durch die Güte des Herrn Prof. Dr. Zschokke gelangten wir in den Besitz von „Galtmilch" verschiedenen Ursprunges, aus der wir mittels Agarplatten unsere Streptokokken isolierten: Aus den oft fast in Reinkultur vorhandenen Streptokokkenkolonieen impften wir eine Anzahl Bouillongläschen, stellten diese zu 30°, um an der Hand des für die Streptokokken so charakteristischen flockigen Wachstums über die Streptokokkennatur völlig ins klare zu kommen. Von den zahlreichen geimpften Gläschen benutzten wir schließlich die zwei das Streptokokkenbild am schönsten aufweisenden für unsere weiteren Versuche, nicht aber ohne uns vorher noch an der Hand einer Plattenkultur über die Reinheit der Bouillonkulturen vergewissert zu haben. Zu unserem Befremden verloren die bisher allen Anforderungen nachgekommenen Streptokokken schon nach der 2. oder 3. Generation in Milchzuckeragar oder Agar oder Molkengelatine eines ihrer charakteristischen Artmerkmale, nämlich die Eigenschaft, in Nährbouillon flockig zu wachsen, und dabei die Kulturflüssigkeit nicht zu trüben; es trat eine diffuse Trübung auf, und dementsprechend waren auch auf mikroskopischem Wege die Reinkulturen unserer Galtstreptokokken von solchen eines Güntheri nicht mehr zu unterscheiden. Die ursprünglich 300—400-gliederigen Ketten waren in 8—10-gliederige, ja in Doppel- und Einzelindividuen zerfallen; bei aufmerksamster Beobachtung schien uns die Kokkennatur immer fraglicher, indem hin und wieder mehr längliche, ja fast zugespitzte Formen neben den allerdings noch in Mehrzahl vorhandenen kurzen Streptokokkenketten zu verzeichnen waren. Die so veränderten Kulturen schienen uns damals für weitere Versuche als untauglich, und wir schickten uns an, neues besseres Vergleichsmaterial zu gewinnen. Auf genau gleichem Wege wie das erste Mal gelangten wir in den Besitz von vier Galtstämmen, wovon die ersten zwei Bouillon klar ließen, die anderen hingegen eine starke diffuse Trübung hervorriefen. In dem einen und anderen Falle handelte sich um typische Streptokokkenketten und ein Unterschied in der Gliederzahl konnte nicht wahrgenommen werden. Diese zwei Doppelstämme sind es, die zu den im folgenden niedergelegten Untersuchungen Verwendung gefunden haben.

Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## XIII. Galtstreptokokken, welche die Bouillon unmittelbar nach der Isolierung trübten.

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm XIIIa. | Stamm XIIIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.) bei 30°. Schüttelkultur von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, Kolonieen rundlich bis elliptisch, je nach Verdünnung bis $^1/_2$ mm D. | Schüttelkultur von oben bis unten gleich starkes Wachstum, keine Gasbildung, sehr starke, durch Säure hervorgerufene Trübung des Agarpfropfs, Kolonieen rundlich oder elliptisch, je nach Verdünnung bis 1 mm D. |
| Molkengelatineplatten bei 20°. Kreisrunde, ziemlich scharf konturierte Kolonieen von feinkörnigem Aussehen, in der Tiefe eher besser wachsend als an der Oberfläche, keine Verflüssigung, bis 0,5 mm D. | Wie XIIIa |
| Peptonschottenagarplatten bei 30°. Kolonieen kreisrund oder elliptisch, braunschwarz, körnig, von 0,05—0,4 mm D. | Kolonieen unregelmäßig, oft scharf konturiert, 0,7 × 0,3 mm, von einem schleierartigen Hofe umgeben und körnigen Inhalt aufweisend |
| Milchzuckeragarstich bei 30°. Von oben bis unten gleichmäßig verlaufendes, kräftiges Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie XIIIa |
| Molkengelatinestich bei 20°. Ziemlich gleichmäßiges Wachstum dem ganzen Stichkanal entlang, ohne Oberflächenausbreitung | Wie XIIIa |
| Kartoffel bei 30°. Sehr spärliches Wachstum in Form einer streifenförmigen Auflagerung | Kein sichtbares Wachstum |
| Peptonschotte bei 30°. Starke Trübung, sehr starker, schmutzig-weißer Bodensatz, an der Wandung des Gläschens flockiger Belag, keine Decke, kein Ring | Wie XIIIa |
| Nährbouillon bei 30°. Ziemlich starke Trübung, schwacher, flockiger Bodensatz, kein Ring, keine Decke | Starke Trübung, starker; schmutzig-weißer Bodensatz, kein Ring, keine Decke |

### Mikroskopischer Befund.

| Stamm XIIIa. | Stamm XIIIb. |
|---|---|
| Milchzuckeragar (H. Sch.). Doppelindividuen, deren einzelne Zelle 0,9—1 × 0,8—0,9 μ, mit Spitzchenandeutung; 4—6-gliederige Kettchen, ihre ursprüngliche Streptokokkennatur noch deutlich verratend | Einzeln oder zu zweien vorkommend; wenn einzeln, entweder ganz rund, 0,6 × 06 μ, oder dann etwas länger als breit, 1 × 0,7—0,8 μ; Doppelindividuen ebenfalls kokkenähnlich, deren Zellen 0,8—0,9 × 0,9 μ, daneben solche von 1—1,1 × 0,9 μ mit Spitzchenandeutung oder sehr schönen Spitzchen |
| Molkengelatineplatten. Meist als Doppelstäbchen mit teilweise schönen Spitzchen, 1 × 0,7—0,8 μ, daneben auch einzeln, 0,8 × 0,6 μ, in Form von 4—6-gliederigen Kettchen, 0,7 × 0,7 μ, vorkommend | Häufig einzeln, meist ganz rund, 0,7 × 0,7 μ oder 0,9 × 0,9 μ, daneben auch in Kettchenform, die einzelnen Glieder entweder rund oder mehr oder weniger länglich, mit Spitzchenandeutung |
| Peptonschottenagarplatten. Sehr schöne Doppelstäbchen mit typischen Spitzchen, 0,9—1,1 × 0,8 μ, daneben auch Einzelindividuen | In sehr langen typischen Streptokokkenketten vorkommend, 0,8 × 0,8 μ, daneben auch sehr schöne Doppelstäbchen, 1,1 × 0,8 μ, mit typischen Spitzchen, auch Einzelindividuen |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| **Milchzuckeragarstich.** Einzeln und zu zweien vorkommend, mit teilweise schönen Spitzchen, 0,9—1,2 × 0,7—0,9 μ | Einzeln, zu zweien und ganz selten in Form kleiner Kettchen vorkommend. Einzelindividuen entweder ganz rund oder länglich, 1 × 1 μ oder 1,2 × 0,9 μ. Doppelindividuen in den Dimensionen ebenso variierend wie Einzelindividuen, mitunter sehr schön ausgeprägte Spitzchen vorhanden |
| **Molkengelatinestich.** Meist in Form von Doppelstäbchen mit Andeutung von Spitzchen, 0,9—1 × 0,6—0,7 μ | Doppelstäbchen ohne Spitzchen, 0,8 × 0,7—0,8 μ, Einzelindividuen 0,7—1 × 0,6—0,8 μ |
| **Kartoffel** fehlt | |
| **Peptonschotte.** Doppelstäbchen mit sehr schönen Spitzchen, 0,8—0,9 × 0,5 μ, auch kleine Kettchen von gleichen Formen und Dimensionen vorkommend | Kettchen von 10—30 Gliedern; Einzelglieder entweder so lang wie breit, 0,7 × 0,7 μ oder dann 1 × 0,6 μ |
| **Nährbouillon.** Während in der bei der Isolierung geimpften Nährbouillon ausschließlich sehr lange Ketten vorhanden waren, hat diesmal ein starker Zerfall in Einzel- u. Doppelindividuen stattgefunden | Auch das zweite Mal, d. h. nach mehrmaligem Passieren anderer, ja fester Nährböden, den Streptokokkencharakter immer noch deutlich zeigend, indem nur 6—40-gliedrige Ketten vorkommen, 0,7—0,8 × 0,7—0,8 μ |
| Doppelindividuen mit schönen Spitzchen, 0,8—1,2 × 0,6—0.8 μ. Die kurzen Streptokokkenketten meist rundliche Glieder, 0,7—0,8 × 0,7—0,8 μ | |
| **Milch bei 20°, 30°, 37°.** Sehr schöne Doppelstäbchen, 0,8—0,9 × 0,5—0,6 μ | Einzeln, zu zweien und auch als ganz kleine Kettchen vorkommend, in Größe und Form ziemlich stark variierend, entweder 0,7 × 0,7 μ oder 1 × 0,7 μ mit Spitzchenandeutung oder kleinen Spitzchen |
| Nach einer Zwischenzeit von 8 Monaten, während welcher der Stamm mit monatlich einmaliger Ueberimpfung in Milch aufbewahrt wurde, zeigt sich insofern ein erfreulicher Fortschritt, als **Milchzuckeragar** und **Molkengelatineplatten** ihr kettchenförmiges Wachstum ganz eingebüßt haben und nur noch Einzel- und besonders Doppelstäbchen, 1—1,2 × 0,8—0,9 μ, vorkommen, meist ohne Spitzchen | Auch hier hat sich innerhalb 8 Monaten eine Umwandlung vollzogen, indem z. B. jetzt in **Molkengelatineplatten** deutliche Doppelstäbchen, wenn auch ohne Spitzchen, 1,2 × 0,9 μ, in **Peptonschottenagarplatten** keine Kettchen mehr, sondern nur noch Doppelstäbchen, 1 × 1 oder 1,2 × 0,9 μ mit teilweise sehr schönen Spitzchen vorkommen. Auch der **Milchzuckeragarstich** zeigt ein ausgeglicheneres Bild; an Stelle der damals so heterogenen Form findet man jetzt Diplokokken und 8—10-gliedrige Streptokokken 1 × 1 μ. Die übrigen sind konstant geblieben |
| **Nährbouillon** zeigt schöne Doppelstäbchen mit Spitzchen, etwas bauchig, 1,1 × 0,9 μ | **Nährbouillon.** Schöne Doppelstäbchen mit Spitzchen, 1,2 × 0,9 μ, hie und da kleine Kettchen |

(Folgt Tabelle XIII p. 732, 733.)

## XIV. Galtstreptokokken, die Bouillon unmittelbar nach der Isolierung nicht trübten.

### Kulturelles Verhalten.

| Stamm XIVa. | Stamm XIVb. |
|---|---|
| **Milchzuckeragar** (H. Sch.) **bei 30°.** Schüttelkultur zeigt von oben bis unten gleich starkes Wachstum; die rundlichen oder elliptischen Kolonieen sind je nach Verdünnung von $^1/_2$—1 mm D. | Wie XIVa |

Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Galtstreptokokken, welche

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm XIIIa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Juni 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 72 Std. | Feinflockig geronnen | 10,5 | 64 Std. | Schwach fließend geronnen | 9,8 |
| 30° | 20 „ | Feinflockig bis gallertartig geronnen | 7 | 17 „ | Fest geronnen | 7 |
| 37° | 20 „ | Wie oben, mit schwacher Serumausscheidung | 8,2 | 17 „ | Ziemlich fest geronnen mit schwachem Serumring | 6,9 |
| | | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 6,2 |
| | | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 6,9 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 1. Best. Nov. 05 | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 2. Best. Dez. 05 | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 3. Best. Jan. 06 | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat, Säuregrad, 4. Best. Jan. 06 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dextrose | Diffuse Trübung 4, stark. flock.-schleimiger Bodensatz | Die zieml. bauchigen Doppelindividuen halten die Mitte zwischen Diplokokken u. Doppelstäbchen | 9 | 12 (11) | 12 | 11,6 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 9,4 | 12 | 10,4 | 11 |
| Laktose | Desgl. | Desgl. | 5,9 | 8,3 | 6,6 | 9 |
| Maltose | Desgl. | Desgl. | 8,4 | 10 | 9,6 | 8,8 |
| Saccharose | Diffuse Trübung, schwacher flockiger Bodensatz | Neben allerd. zieml. bauchigen Doppelstäbchen auch 6—8-gliedrige Kettchen | 0 | 0 | 0,2 | 0 |
| Arabinose | Diffuse Trübung 3, schwacher Bodensatz | Güntheri - ähnliche Doppelstäbchen, etwas bauchig | 1,1 | 9,5 (9,5) | 7,8 | 7,4 |
| Mannit | Wie oben | Schöne Güntheri u. kleine Kettchen | 3,4 | 5,3 | 7,6 | 4 |
| Glycerin | Diffuse Trübung 2, schwacher schleim. Bodensatz | | 0 | 1,1 | 0,6 | 1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XIII.
die Bouillon unmittelbar nach der Isolierung trübten.
Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.

| Stamm XIIIb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Juni 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| — | — | — | 88 Std. | Schwach fließend geronnen | 10 |
| 48 Std. | Feinflockig bis gallertartig geronnen | 10,3 | 24 „ | Feinflockig bis gallertartig geronnen | 7,4 |
| 24 „ | Desgl. | 6,9 | 24 „ | Dünnflüssig mit starker Serumausscheidung geronnen | 4,5 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 3,6 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 8,1 |

Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
geimpften Gläschen im 30°-Schrank.

| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trübung 4, starker, flockig-schleim. Bodensatz | Die zieml. bauchigen Doppelindividuen halten die Mitte zwischen Doppelstäbchen u. Diplokokken | 11,2 | 13 | 11,4 | 11,2 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 12,6 | 13 | 10,4 | 11,2 |
| Laktose | Desgl. | Neben typisch. Güntheriformen auch fast rundliche Individuen vorkomm. | 7 | 8,3 | 7 | 7,2 |
| Maltose | Desgl. | Schöne Güntheriformen neben ganz diplokokkenähnl. Gebilden | 8,9 | 10,5 | 9 | 8,6 |
| Saccharose | Diff. Trübung 3—4, starker, flockig-schleim. Bodensatz | Neben Doppelstäbch. u. diplokokkenähnl. Gebilden 10—14-gliedrige Kettchen | 4,6 | 6,7 | 4,5 | 4,5 |
| Arabinose | Diffuse Trübung 3, schwach. Bodensatz | Wie oben | 0 | 2 | 1,6 | 1,6 |
| Mannit | Diffuse Trübung 4 | Desgl. | 4,1 | 6,7 (5,2) | 4,4 | 4,6 |
| Glycerin | Diffuse Trübung 2, schwacher, flockig-schleim. Bodensatz | Sehr schöne Güntheriformen mit typisch. Spitzchen | 0 | 0,9 | 0,8 | 0,8 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | |
|---|---|
| **Molkengelatineplatten bei 20°.** kreisrunde, ziemlich scharf konturierte Kolonie, feinkörnig, in der Mitte Neigung zu Zooglöenbildung bemerkbar, 0,2 mm D. | Wie XIVa |
| **Peptonschottenagarplatten bei 30°.** Ziemlich scharf konturierte elliptische Kolonieen von einem trüben Hofe umgeben, 0,3×0,1 mm | Ziemlich scharf konturierte, entweder kreisrunde oder elliptische Tiefenkolonieen 0,18—0,2 mm D. |
| **Milchzuckeragarstich bei 30°.** Von oben bis unten gleichmäßig kräftiges Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie XIVa |
| **Molkengelatinestich bei 20°.** Nach 3 Tagen von oben bis unten starkes Wachstum ohne Oberflächenausbreitung | Wie XIVa |
| **Kartoffel bei 30°.** Kein sichtbares Wachstum | Wie XIVa |
| **Peptonschotte bei 30°.** Starke Trübung, sehr starker, schmutzig-weißer Bodensatz, kein Ring, keine Decke | Wie XIVa |
| **Nährbouillon bei 30°.** Die klare Bouillon zeigt deutlich flockiges Wachstum, starker schleimig-flockiger Bodensatz | Wie XIVa |

## Mikroskopischer Befund.

| | |
|---|---|
| **Milchzuckeragar (H. Sch.).** Meist Doppelstäbchen, 0,9—1,4×0,6—0,9 μ, mit teilweise schönen Spitzchen | Vorwiegend 10—20-gliedrige Ketten, Glieder 0,7×0,7 μ, daneben auch Doppelindividuen von 0,9—1×0,6—0,7 μ, mit hie und da schönen Spitzchen |
| **Molkengelatineplatten.** Doppelstäbchen mit Spitzchen 1×0,7 μ, auch 6—8-gliedrige Kettchen, Glieder 0,7—0,8×0,5—0,6 μ | Wie XIVa |
| **Peptonschottenagarplatten.** Zu 4—6-gliedrigen Ketten angeordnet, Zellen 0,8×0,6—0,7 μ, daneben schöne Doppelstäbchen mit typischen Spitzchen, 0,8—1 × 0,6—0,7 μ | Schöne Doppelstäbchen mit Spitzchen 1—1,2×0,7—0,8 μ |
| **Milchzuckeragarstich.** Meist in Form von 10—15-gliedrigen Ketten, die einzelnen Kettenglieder entweder ganz rund oder länglich, ebenso die wenigen Doppelindividuen | In Form von 6—10-gliedrigen Ketten, 0,6×0,6 μ oder 1×0,8 μ, daneben Doppelstäbchen 1,2×0,9 μ |
| **Molkengelatinestich.** Meist sehr schöne Doppelstäbchen mit Spitzchen, Zellen 0,9—1,1×0,7 μ, daneben auch 4—6-gliedrige Kettchen, 0,7—0,8×0,7 μ | Wie XIVa |
| **Kartoffel.** Bild fehlt | Wie XIVa |
| **Peptonschotte.** Bis 10-gliedrige unregelmäßige Kettchen, gruppenweise angeordnet, 0,7×0,7 μ | Wie XIVa |
| **Nährbouillon.** In Form von 6- und mehrgliedrigen Ketten 0,6×0,6 μ vorkommend, daneben auch Doppelindividuen mit schönen Spitzchen 0,9×0,7 μ | Sehr lange typische Streptokokkenketten, Einzelglieder 0,6×0,6 μ |
| **Milch bei 20°, 30° und 37°.** Neben 4-gliedrigen Kettchen 0,8—0,9×0,6 0,7 μ, auch Doppelstäbchen mit Spitzchen 0,7—0,9×0,6—0,7 μ | Schöne Kettchen, deren Einzelglieder entweder ganz rund oder dann länglich sind, 0,7—0,8×0,5—0,7 μ, es kommen sogar schöne Spitzchen vor, aber nicht überall |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen sind die Kettchen in Peptonschottenagarplatten verschwunden und finden sich nur noch typische Güntheri 1,2 × 0,9 μ. Der Milchzuckeragarstich weist neben den bereits früher vorhandenen zahlreichen kleinen Kettchen (0,9 × 0,9 μ) auch sehr schöne Doppelstäbchen mit Spitzen auf, 0,7—1,2 × 0,7—0,9 μ. Der Molkengelatinestich zeigt das schönste Güntheribild. Nährbouillon weist schöne Doppelstäbchen, 1,2 × 0,9 μ mit Spitzchen auf. Die übrigen Nährböden sind konstant geblieben

8 Monate später nach 8 Ueberimpfungen haben alle die Nährböden, die früher ein mehr oder weniger ausgesprochenes Kettenwachstum zeigten, dies vollständig eingebüßt, dafür sind die Güntheri-ähnlichen Formen mehr in den Vordergrund getreten, so bei Milchzuckeragar (H. Sch.), Molkengelatineplatten, Milchzuckeragarstich, Molkengelatinestich, Peptonschotte

(Folgt Tabelle XIV p. 736, 737.)

## XV. Weitere Streptokokken, welche die Bouillon unmittelbar nach der Isolierung nicht trübten.

Die überraschenden Resultate, wie sie durch die bisherigen Versuche mit dem Streptococcus agalactiae erhalten worden waren, veranlaßten uns, noch zwei weitere typische Vertreter dieser merkwürdigen Bakterienart zu isolieren und nach teils neuen Gesichtspunkten weiter zu verfolgen.

In erster Linie handelte es sich darum, die gewonnenen, über 100-gliederigen Streptokokken parallel in Nährbouillon, Traubenzuckeragar und Milch unter wöchentlich zweimaliger Ueberimpfung während einer längeren Periode weiterzuzüchten und eventuell auftretende Veränderungen festzuhalten. Es lag die Vermutung nahe, daß die so charakteristisch wachsenden Streptokokken, dem Beispiel ihrer Vorgänger folgend, im Laufe der Zeit ihr flockiges Wachstum in Bouillon gegen starke Trübung umtauschen, und Hand in Hand damit das Kettenwachstum verlieren würden, um schließlich ganz dem Bilde eines Bacterium Güntheri zu entsprechen. Als Kriterium der erfolgten Umwandlung sollte bei den vorliegenden Versuchen das Verhalten der auf verschiedene Weise weitergezüchteten Galtstämme in Bouillon bilden, weil auf letzterem Nährboden die charakteristischen Eigenschaften der fraglichen Art am besten ausgeprägt sind.

Der Versuch nahm Mitte Oktober 1905 seinen Anfang und dauerte bis zum 1. März 1906. Als Ausgangsmaterial diente für beide Stämme eine Reinkultur in Nährbouillon, aus der Bouillon, Traubenzuckeragar (Stich) und Milch geimpft wurden. Die so geimpften Nährböden wurden dann während 3, höchstens 4 Tagen in den 30°-Schrank gestellt, um periodisch untersucht und weitergeimpft zu werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren unerwartete. Wenn auch die Bouillon im Verlaufe der Ueberimpfungen hie und da durch ganz schwache Trübung und entsprechendes Auftreten kürzerer Ketten, ja mitunter durch fast vollständigen Zerfall in Einzel- und Doppelindividuen unsere Hoffnungen erfüllen zu wollen schien, so behauptete sich schließlich das charakteristische flockige Wachstum doch mit einer gewissen Hartnäckigkeit, wobei die anfänglich über 100-gliederigen Ketten wenig von ihrer Länge einbüßten. In ähnlicher Weise behielten die zu wiederholten Malen mit zerfallenen Streptokokken aus Traubenzuckeragarstich geimpften Bouillongläschen ihr anfänglich Güntheri-ähnliches Aussehen, sowie die diffuse Trübung während 1—2 Generationen, um sich

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Physiologisches Verhalten der Galtstreptokokken, welche die

α) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei

| Stamm XIVa | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Juni 1905 | | | Februar 1906 | | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 48 Std. | Gallertig geronnen | 11 | 64 Std. | Schwach fließ. geronnen | 8,4 |
| 30° | 20 „ | „ „ | 11 | 24 „ | Dünnflüssig geronnen | 7 |
| 37° | 20 „ | Gallertig geronnen, mit schwacher Serumausscheidung | 8,9 | 17 „ | Fest geronnen, mit schwacher Serumausscheidung | 6,4 |
| | | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 8,4 |
| | | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 7,9 |

β) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter

Nach 8-tägigem Verweilen der

| Stamm XIVa | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat<br>Säuregrad<br>1. Best. Nov. 05 | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat<br>Säuregrad<br>2. Best. Dez. 05 | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat<br>Säuregrad<br>3. Best. Jan. 06 | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat<br>Säuregrad<br>4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diff. Trübung, sehr starker, flockig-griesiger Bodensatz | Deutliche, jedoch etwas gedrungene Güntheriformen m. Spitzchen | 8,5 | 10,5 | 8,8 | 8,6 |
| Lävulose | Wie oben | Wie oben | 7,5 | 12 (12) | 8,4 | 8,6 |
| Laktose | Desgl. | Desgl. | 6,5 | 10 (9) | 7,4 | 7,4 |
| Maltose | Desgl. | Desgl., aber gruppenweise angeordnet | 6,5 | 11 (10,3) | 7,8 | 8 |
| Saccharose | Diffuse Trübung 2, schwacher schleim.-flockiger Bodensatz | Ziemlich typische Güntheriformen | 0 | 0,2 | 0 | 0 |
| Arabinose | Trüb. 1, schwacher schleim. Bodensatz | Stark bauchige Güntheriformen | 0 | 1,5 | 1,4 | 1,4 |
| Mannit | Wie oben | 8—10-gliedrige Kettchen m. rundlichen Gliedern, daneben ziemlich typische Güntheriformen | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glycerin | Trüb. 1, schwacher schleimig-flockiger Bodensatz | Wie oben | 0 | 0,5 | 0 | 0,1 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**XIV.**
**Bouillon unmittelbar nach der Isolierung nicht trübten.**
**Kultur in sterilisierter Milch bei 20°, 30° und 37°.**

| Stamm XIVb | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Juni 1905 | | | Februar 1906 | | |
| Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 5 Tage | Feinflockig bis gallertig geronnen | 9 | 4 Tage | Schwach fließend geronnen | 13,2 |
| 20 Std. | Gallertig geronnen mit Serumring | 8 | 40 Std. | Gallertig geronnen, mit schwachem Serumring | 8 |
| 20 „ | Gallertig geronnen, mit sehr deutlichem Serumring | 8,4 | 24 „ | Gallertig geronnen, mit Serumring | 8,4 |
| | Säureproduktion bei 30° sofort nach der Gerinnung | | | | 3,4 |
| | Säureproduktion bei 30° nach 10 Tagen | | | | 8,7 |

**Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.**
**geimpften Gläschen im 30°-Schrank.**

| Stamm XIVb | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfr. Fleischbouillon + Kohlehydrat | | Zuckerfr. Extraktbouillon + Kohlehydrat | |
| | | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| | | | 1. Best. Nov. 05 | 2. Best. Dez. 05 | 3. Best. Jan. 06 | 4. Best. Jan. 06 |
| Dextrose | Diffuse Trübung 4, sehr stark., flockig-griesiger Bodensatz | Sehr typische Güntheri | 9,7 | 12 | 8,6 | 8,2 |
| Lävulose | Bouillon relativ klar, starker schmutzig-griesig. Wandbelag | Güntheriformen in Gruppen angeordn., daneben auch kleine Kettchen und gedrungene Doppelstäbchen | 9,1 | 11,5 | 9,4 | 9,4 |
| Laktose | Diffuse Trübung 4, stark. griesig-flockiger Bodensatz | Sehr typische Güntheriformen | 5,3 | 8,5 (6,5) | 6,6 | 6,8 |
| Maltose | Wie oben | Neben typischen Güntheri stark bauchige Doppelstäbchen, alles in Gruppen angeordn. | 6,6 | 8,5 | 7,8 | 9 |
| Saccharose | Trüb. 1—2, schwach. typisch-schleimiger Bodensatz | Wie oben | 0,6 | 0,5 | 0 | 0,2 |
| Arabinose | Trübung 1, schwach. schleim. Bodensatz | Desgl. | 5 | 5,5 | 5 | 5,6 |
| Mannit | Trüb. 2—3, schleim.-flockiger Bodensatz | Desgl. | 3,8 | 5,6 | 4,2 | 4,2 |
| Glycerin | Trübung 1, schwach. schleimig-flockiger Bodensatz | Neben den etwas bauchig. Güntheriformen auch kleine Kettchen m. rundlichen Gliedern | 0,5 | 1,3 | 0,8 | 0,6 |



Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allemal wieder zu typischen Streptokokken mit deutlich flockigem Wachstum zu regenerieren. Diesem Verhalten entsprach auch die Milch, deren Streptokokken ihren Ursprung überhaupt nie verleugneten; die aus den Milchkulturen geimpfte Bouillon deutete jedesmal schon makroskopisch auf Streptokokken hin und die mikroskopische Untersuchung zeigte immer nur das nach dem makroskopischen Aussehen vermutete Bild.

Nachdem nun die Lösung der gestellten Aufgabe nach dieser Richtung hin nicht möglich schien, versuchten wir auf eine andere Weise zum Ziele zu gelangen. Wir brachten unsere zwei Galtstämme auf Milchzuckeragar (H. Sch.), auf Molkengelatineplatten, Peptonschottenagarplatten, Milchzuckeragarstich und Molkengelatinestich, impften von den mehr oder weniger zerfallene Ketten zeigenden Kulturen je 4 Bouillongläschen und verfolgten diese makroskopisch und mikroskopisch. Allein auch diesmal schienen die Aussichten sehr gering, indem alle Kulturen, mit Ausnahme der Bouillonkultur aus Milchzuckeragar (H. Sch.), selbst die vollständig zerfallenen, morphologisch kaum mehr als Streptokokken anzusprechenden, sich innerhalb 2—3 Tagen zu typischen Kettchenformen regenerierten und charakteristisch flockiges Wachstum zeigten. Einzig und allein die aus Milchzuckeragar (H. Sch.) geimpfte Bouillon bot nach ihrem Aussehen die Möglichkeit, die gewünschte Ueberführung in Güntheri-Formen am Ende doch noch zu verwirklichen. Wir züchteten nun die beiden Stämme, indem wir Kolonieen aus jenen Hohe-Schicht-Kulturen als Ausgangspunkt wählten, durch 12 Generationen in Nährbouillon weiter, ohne aber, wie aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist, zu einem eigentlich positiven Resultate zu gelangen.

Ausgangskultur: Milchzuckeragar (H. Sch.).

| | Stamm XVa. | Stamm XVb. |
|---|---|---|
| | Zerfall der bis 100-gliederigen Streptokokken in 5-gliederige Kettchen, Doppel- und Einzelindividuen, 0,6 × 0,6 μ | Noch weitgehenderer Zerfall als bei XVa; Kettchen selten, dafür Doppel- und Einzelindividuen |

Successive Tochterkulturen in Bouillon.

| Generation | | |
|---|---|---|
| 1. | Die trübe Bouillon zeigt eher eine Regeneration zu 5—25-gliederigen Kettchen. 10 Tage später finden sich in gleicher Bouillon ähnliche Zerfallsprodukte wie in Milchzuckeragar (H. Sch.) | Die trübe Bouillon zeigt ebenfalls eine deutliche Regeneration. Einzel- und Doppelstäbchen treten gegen kurze und längere Stäbchen zurück |
| 2. | Einzel- und Doppelindividuen, daneben nicht sehr zahlreiche 5—6-gliederige Kettchen | Regeneration zu 6—8-gliederigen Kettchen |
| 3. | Die immer noch trübe Bouillon zeigt eine weitgehendere Regeneration als in Generation 2 | Regeneration zu 8—25-gliederigen Ketten; Einzel- und Doppelindividuen selten |
| 4. | Die stark diffus getrübte Kulturflüssigkeit zeigt neben 4—8-gliederigen Kettchen auch Einzel- und Doppelindividuen mit Spitzchenandeutung, 0,6 × 0,6 μ oder 0,9 × 0,6 μ | Neben 8—15-gliederigen Kettchen auch lanzettförmige Kurzstäbchen, 0,8 × 0,6 μ |
| 5. | Wie oben | Die immer noch trüb wachsende Bouillon zeigt neben wenigen Einzel- und Doppelindividuen 4—20-gliederige Ketten |
| 6. | Wie oben | 3—25-gliederige Kettchen |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | | |
|---|---|---|
| 7. | Neben ziemlich langen auch kürzere 4—6-gliederige Kettchen, 0,6 × 0,6 μ, daneben Einzel- und Doppelindividuen, die stark an Güntheri erinnern, 0,8 × 0,6 μ, mit Spitzchen | Ziemlich lange, daneben kurze Kettchen, 0,6 × 0,6 μ, und stark an Güntheri erinnernde Individuen von lanzettförmigem Aussehen, 0,8—0,6 × 0,6 μ |
| 8. | Neben täuschend Güntheri-ähnlichen Formen findet man in der trüben Bouillon 5—15-gliederige Streptokokkenketten | Wie oben |
| 9.–12. | Wie oben | Wie oben |

Die bisherigen Versuche mit den zuletzt isolierten Galtstämmen XVa und XVb haben demnach zu einem von dem bei den früher isolierten Galtstämmen beobachteten abweichenden Ergebnis geführt. Es ist uns nicht gelungen, durch einfache oder wiederholte Ueberimpfungen auf verschiedene Nährböden Tochterkulturen zu bekommen, die im mikroskopischen Bilde einigermaßen dem Bacterium Güntheri entsprachen. Insbesondere hat eine von verschiedenen Nährböden ausgehende Rückimpfung auf Bouillon immer wieder zur Entwickelung der für die Original-Ausgangskulturen charakteristischen Ketten geführt.

Es blieb als einzige, wenn auch schwache Möglichkeit, in der gedachten Richtung zu einem positiven Ergebnis zu gelangen, das Auftreten von Güntheri-Formen in den für das Studium des Verhaltens unserer Stämme gegenüber verschiedenen Kohlenstoffquellen benutzten Nährlösungen. In der Tat ist bei Stamm XVa eine derartige Erscheinung aufgetreten, wie aus der Tabelle XVa zu ersehen ist. Das Auftreten vorherrschender Güntheri-Formen ging dabei Hand in Hand mit einer Erhöhung des Säureproduktionsvermögens. Auffallenderweise zeigte eine Wiederholung des Versuches zu späteren Zeiten nichts mehr von den beiden Eigentümlichkeiten, so daß wir nicht berechtigt sind, aus dem vereinzelten Vorkommen irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Stamm XVb hat durch die ganze Versuchsperiode hartnäckig an der Kettenform festgehalten.

(Folgt Tabelle XVa und XVb p. 740, 741.)

Tabelle XVc.

Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur in sterilisierter Milch bei 20, 30 und 37°.

| | Stamm XVa | | | Stamm XVb | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Februar 1906 | | | Februar 1906 | | |
| Temp. | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad | Zeit | Aussehen des Koagulums | Säuregrad |
| 20° | 4½ Tage | Dünnflüssig geronnen | 8 | 5 Tage | Dünnflüssig geronnen | 10,5 |
| 30° | 26 Std. | „ „ | 6,5 | 26 Std. | „ „ | 5,5 |
| 37° | 24 „ | Fest geronnen, mit Serumring | 4,6 | 24 „ | Fest geronnen, mit Serumring | 4 |



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Physiologisches Verhalten der Galtstreptokokken, welche Bouillon unmittelbar nach der Isolierung nicht trübten.
**Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.
Nach 8-tägigem Verweilen der geimpften Gläschen im 30°-Schranke.**

| Stamm XVa | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 1. Best. Nov. 05 | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 2. Best. Dez. 05 | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 3. Best. Jan. 06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 4. Best. Fbr.06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 5. Best. Fbr.06 |
| Dextrose | Die klare Bouillon zeigt deutl. griesig-flockiges Wachstum | Typische Streptokokken | 5,2 | Bouill. klar, griesig-flockiger Bodensatz | Gruppenweise angeordn. Doppelindividuen | 16,6 | Bouill. klar, starker, flockig-schleimiger Bodensatz | Typische Streptokokken | 12,7 | 5 | 5,2 |
| Lävulose | Wie oben; sehr starker, griesig-schleimiger Bodensatz | Lange und kurze Kettchen gruppenweise angeordnet | 4,6 | Wie oben | Wie oben | 16,5 | Wie oben | Wie oben | 7,5 | 4,8 | 5 |
| Laktose | Wie oben | Wie oben | 3,9 | „ „ | „ „ | 10,5 | „ „ | „ „ | 7 | 4 | 4,2 |
| Maltose | „ „ | Typische Streptokokken | 3,8 | Bouillon fast klar, griesig-flockiges Wachstum und Bodensatz | In Gruppen angeordnete Güntheri-Formen | 14,2 | „ „ | „ „ | 6,2 | 5,6 | 5,2 |
| Saccharose | „ „ | Längere u. kürzere Streptokokkenkettchen | 2,9 | Trübung 1—2, schleimig-flock. Bodensatz | Typische Güntheri-Formen | 1,4 | Diffuse Trüb. 1-2, stark., schleim.-flock. Bodensatz | „ „ | 5,5 | 2,6 | 2,4 |
| Arabinose | Bouillon fast klar, schwach., flock.-schleimiger Bodensatz | Wie oben | 1,2 | Trüb. 1, schwacher, schleimiger Bodensatz | Doppelindividuen mit Spitzchen oder Andeutung, 1—1,2 × 0,9 μ | 2,6 | Bouill. klar, stark schleimig-flock. Bodensatz | „ „ | 2 | 1,8 | 2 |
| Mannit | Bouill. ganz klar, starkes Wachst., starker schleimiger Bodensatz | Sehr schöne Streptokokken | 0 | Trüb. 1, schwacher, flockig-schleimiger Bodensatz | Typische Güntheri-Formen neben 10—15-gliedr. Kettchen | 0,9 | Bouillon klar, schwach schleimig-flockig. Bodensatz | „ „ | 0,8 | 0,2 | 0 |
| Glycerin | Bouill. klar, starker, schleimig-flockiger Bodensatz | Desgl. | 0,4 | Diffuse Trübung 2—3, schwach., schleimig-flock. Bodensatz | Typ. Güntheri m. sehr schönen Spitzchen, 1,2 × 0,7—0,9 μ, daneben 10—15-gliedr. Kettchen | 1,5 | Trüb. 1, schwacher, flockig-schleimiger Bodensatz | „ „ | 1,3 | 0,4 | 0,6 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Tabelle XVb.

**Physiologisches Verhalten der Galtstreptokokken, welche Bouillon unmittelbar nach der Isolierung nicht trübten.**
**Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.**
**Nach 8-tägigem Verweilen der geimpften Gläschen im 30°-Schranke.**

| Stamm XVb | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Art der zugesetzten Kohlehydrate | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 1. Best. Nov. 05 | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 2. Best. Dez. 05 | Makroskopisches Aussehen der geimpften Flüssigkeit | Mikroskopisches Bild im hängenden Tropfen | Zuckerfreie Fleischbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 3. Best. Jan. 06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 4. Best. Fbr. 06 | Zuckerfreie Extraktbouillon + Kohlehydrat Säuregrad 5. Best. Fbr. 06 |
| Dextrose | Die klare Bouillon zeigt deutl. griesig-flockiges Wachstum mit starkem schleimig. Bodensatz | Lange und kurze Streptokokken | 5,5 | Bouillon klar, schmutz.-flockiger Bodensatz | Typische Streptokokken | 10,6 | Bouillon fast klar, starker, flockig-griesiger Bodensatz | Typische Streptokokken | 8,5 | 5,4 | 5,6 |
| Lävulose | Wie oben | In Zerfall begriffene Streptokokken | 4,3 | Wie oben | Lange und kurze Streptokokken | 9,5 | Wie oben | Desgl. | 7,5 | 4,4 | 4,4 |
| Laktose | „ „ | Wie oben | 3,9 | „ „ | Typische Streptokokken | 8,2 | „ „ | Desgl. | 7,5 | 4,4 | 4 |
| Maltose | „ „ | Typische Streptokokken | 3,8 | „ „ | Lange und kurze Streptokokken | 9 | „ „ | Desgl. | 6,5 | 5 | 5,2 |
| Saccharose | „ „ | In Zerfall begriffene Streptokokken | 2,3 | Schwach trübe Bouillon | Wie oben | 7,9 | Diff. flock. Trüb. 1-2, stark flock. Bodensatz | Desgl. | 5,3 | 2,2 | 2,4 |
| Arabinose | „ „ | Typische Streptokokken | 1,1 | Bouill. klar, stark schleim. Bodensatz | „ „ | 2,3 | Fast klar, stark schleimiger Bodensatz | Desgl. | 1,5 | 1 | 1,2 |
| Mannit | „ „ | Desgl. | 0 | Wie oben | „ „ | 1 | Wie oben | Desgl. | 0,7 | 0 | 0 |
| Glycerin | „ „ | Desgl. | 0,5 | „ „ | „ „ | 1,2 | „ „ | Desgl. | 1 | 0 | 0 |

Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

## F. Zusammenfassende Besprechung der in den vorhergehenden Abschnitten niedergelegten Untersuchungsresultate.

### Kulturelles Verhalten.

In Milchzuckeragar (H. Sch.) sind zwischen den einzelnen untersuchten Stämmen, die Streptokokken inbegriffen, keine wesentlichen Unterschiede zu bemerken; sowohl die Schüttelkultur als auch die stärkeren Verdünnungen zeigten durchweg ein übereinstimmendes Bild.

Auf den Molkengelatineplatten sind insofern Unterschiede zu konstatieren, als die Güntheri-Stämme IIIa und IIIb aus Emmentalerkäse nicht wuchsen, die Stämme VIIa und VIIb aus Sauerbrut der Bienen eine Verflüssigung der Gelatine bewirkten, das Aussehen der Kolonieen der Galtstreptokokken sich von den übrigen durch eine bei mikroskopischer Betrachtung mit schwacher Vergrößerung sichtbar werdende körnige Struktur auszeichnete. Die wechselnden Dimensionen der Kolonieen dürften zum großen Teil auf die ungleiche Impfmenge zurückzuführen sein.

Auf den Peptonschottenagarplatten wiegt ein unregelmäßig flockiges Aussehen vor; etwas schärfere Konturen finden sich bei den Güntheri-Stämmen aus Gras; die Güntheri-ähnlichen Organismen aus Sauerbrut zeigen rundliche, scharf begrenzte, durch Schollenstruktur und Strichelung ausgezeichnete Kolonieen, während die des Galt mehr elliptisch und wie in Molkengelatine körnig sind.

Der Milchzuckeragarstich zeigt durchweg von oben bis unten gleich kräftiges Wachstum ohne die geringste Oberflächenausbreitung. Der bei erstmaliger Untersuchung eine Ausnahme bildende Stamm IX aus Mazun verhielt sich das zweite Mal wie die übrigen.

In Molkengelatinestich tritt bei den aus Milch bei 37° und Käse isolierten Stämmen anfänglich kein Wachstum auf. Doch läßt sich solches mehrere Monate später, nachdem der Organismus wiederholt auf anderen Nährböden weitergezüchtet worden ist, konstatieren. Die Güntheri aus Milch bei 20°, jene aus Gras, sowie die Erreger des gelben Galt übertreffen im allgemeinen das nicht sehr starke Wachstum der Stämme aus Kuhkot in erheblichem Grade. Die Güntheri-ähnlichen Organismen aus Sauerbrut der Bienen entsprechen bezüglich der Verflüssigung dem auf Molkengelatineplatten gezeigten Verhalten.

Das Wachstum auf Kartoffel ist in den meisten Fällen gar nicht sichtbar oder sehr spärlich entwickelt, nur bei den Organismen aus Sauerbrut darf es als ziemlich kräftig bezeichnet werden.

In Peptonschotte zeigt sich bei erstmaliger Verwendung überall Wachstum, wenn auch die wechselnde Intensität, das Fehlen oder Vorhandensein von ringförmigem Ansatz und Decke, der mehr oder weniger starke Bodensatz keine durchgreifenden Unterschiede erkennen lassen. Im Februar 1906, also 8 Monate später, tritt nach erneuter Ueberimpfung bei den Stämmen Ia aus Milch bei 37°, IIIa und IIIb aus Emmentalerkäse kein Wachstum mehr auf.

Nährbouillon verrät, die Stämme aus Milch ausgenommen, im allgemeinen ein sehr kräftiges Wachstum; von den Galtstämmen zeigen ursprünglich 4 die charakteristische Flockenbildung bei im übrigen klar bleibender Bouillon; bei den zwei ersten geht diese schon nach kurzer Frist, bei den zuletzt isolierten anscheinend im Zusammenhange mit einer Passage durch Milchzuckeragar in eine diffuse Trübung über, durch welche sich zwei weitere Parallelstämme von Anfang an ausgezeichnet hatten.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

### Mikroskopisches Bild.

In Milchzuckeragar (H. Sch.) bietet sich beim Durchgehen der einzelnen Stämme ein außerordentlich wechselvolles Bild bezüglich Form und Dimensionen der betreffenden Organismen. Da findet sich z. B. in ein und demselben Präparat das schönste lanzettliche Doppelstäbchen neben einem ausgesprochenen Diplokokken- oder kokkenartigen Gebilde. Typische Kettchen mit runden Einzelgliedern bei diesem und jenem Güntheri-Stamme legen uns Verwandtschaftsbeziehungen zu den Streptokokken nahe, während andererseits die letzteren neben ihren Ketten schöne Doppel- und Einzelstäbchen mit oder ohne Spitzchen aufweisen, und somit in Güntheri-ähnlichen Formen auftreten.

Molkengelatineplatten dürften als eine Kultur bezeichnet werden, in welcher die charakteristische Güntheri-Form wohl am deutlichsten aufzutreten pflegt. Wenn auch die Kettchen, die fast runden Einzel- und Doppelindividuen nicht ganz verschwinden, so sind doch im Vordergrund stets die länglich-ovalen, an den Enden mehr oder weniger deutlich verjüngten Doppelzellen zu finden. Die Galtstämme zeigen hier neben 6—8-gliederigen Ketten täuschend Güntheri-ähnliche Gebilde, so daß ein Uneingeweihter, nach dem bloßen mikroskopischen Bilde zu schließen, wohl keinen Augenblick zögern würde, die in Frage stehenden Organismen als Bact. Güntheri anzusprechen.

Auch in Peptonschottenagarplatten erkennt man nicht nur bei den wirklichen Güntheri-Stämmen, sondern auch bei den Galtstämmen den Güntheri-Typus auf den ersten Blick. Neben den mehr oder weniger langen Ketten finden sich typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen.

Milchzuckeragarstich ist ein Nährboden, in dem die eingeimpften Organismen vielfach zu Involutionsformen neigen; es ändert das mikroskopische Bild fast von Stamm zu Stamm, von Versuch zu Versuch. Während man im ersten Versuche unter all den krankhaften Formen, den deformierten Kettchen, an der Hand einiger mit oder ohne Spitzchen versehener Doppelstäbchen sich über die Güntheri-Natur des zu untersuchenden Materials zu orientieren vermochte, sind einige Zeit später die Spitzchen verschwunden, um vielleicht bei einem Stamm aufzutreten, bei dem man sie bisher vermißt hatte. Im allgemeinen hat es den Anschein, als ob durch langes Züchten auf künstlichen Nährböden die typischen Formen seltener werden. Stamm XIIIa, ein Galtstreptococcus, zeigt z. B. beim ersten Versuche ziemlich typische Doppelstäbchen mit Spitzchen: 8 Monate später sind diese gegenüber diplokokkenähnlichen Gebilden stark in den Hintergrund getreten. Während der Galtstreptococcus XIIIb, welcher bei Ueberimpfung auf den fraglichen Nährboden sozusagen nicht mehr in Ketten wuchs und neben in Form und Größe stark variierenden Einzel- und Doppelindividuen auch sehr schön lanzettförmige Güntheri zeigt, machte er 4 Monate später eher den Eindruck von einem Streptococcus: 8—10-gliederige Kettchen wechselten mit Doppelindividuen von $1 \times 1\ \mu$ ab. Umgekehrt zeigte Galtstamm XIVa im Juni 1905 10—15-gliederige Kettchen, im Frühjahr 1906 nebst solchen, aber meistens etwas kürzeren Kettchen, sehr typische Doppelstäbchen mit schönen Spitzchen. Galtstamm XIVb ist in derselben Zeit noch auffallender verändert worden: Von den ursprünglichen 6—10-gliederigen Kettchen findet man keine Spur mehr: Güntheri-ähnliche Doppelstäbchen von den Zelldimen-

sionen 1,2--2 $\times$ 0,9—1,2 $\mu$ finden sich neben ganz runden Individuen ohne Spitzchen.

Der Molkengelatinestich eignet sich ebensogut zum Studium der Güntheri-Formen, wie Molkengelatineplatten. Da, wo überhaupt Wachstum eintritt, ist der Güntheri-Typus meist deutlich ausgeprägt. Selbst bei den Galtstämmen wird man an Bacterium Güntheri erinnert, wenn auch von eigentlichen Spitzchen nur ausnahmsweise gesprochen werden kann.

Peptonschotten scheinen so recht ein das streptokokkenähnliche Wachstum der Güntheri begünstigender Nährboden zu sein. Wenn auch kettenförmige Wuchsverbände nicht durchwegs auftreten, ja in vielen Fällen höchstens von einer Neigung zur Kettenbildung gesprochen werden darf, weil die typischen Doppelstäbchen immer noch dominieren, so repräsentieren doch die 30—40-gliederigen Ketten der Güntheri aus Emmentalerkäse einen Befund, der aufs deutlichste zeigt, wie ein gewöhnliches lanzettförmig wachsendes Milchsäurebakterium unter Umständen in Streptokokkengestalt auftreten kann. Galtstamm XIIIa zeigt nebst sehr typischen Güntheri-Formen kleine Kettchen, deren mit Spitzchen versehene Glieder eher an Güntheri-Kettchen als an eigentliche Streptokokken denken lassen. Bei Galtstamm XIIIb finden sich neben 10—30-gliederigen typischen Streptokokkenkettchen auch Einzel- und Doppelindividuen mit Spitzchenandeutung. Die Galtstreptokokken XIVa und XIVb zeigen neben unregelmäßigen Kettchen Involutionsformen.

Nährbouillon scheint insofern das kettenförmige Wachstum in besonderem Maße zu begünstigen, als die Galtstämme hier dasselbe am schönsten zeigen und mit einer gewissen Hartnäckigkeit beizubehalten suchen. Und doch scheinen gerade diese Präparate geeignet, einen Beitrag zur Frage der Stellung der Güntheri zu den Streptokokken zu liefern, indem an ein und derselben Stelle oft neben sehr typischen Kettchen auch im Zerfall sich befindende, lose aneinanderhängende, ja sehr Güntheri-ähnliche Gebilde vorkommen. Auch die eigentlichen Güntheri-Stämme zeigen unter Umständen neben mehr oder weniger typischen Einzel- und Doppelformen auch starke Anläufe zur Kettchenbildung. Während in Peptonschotte beide Stämme aus Käse in Form 30—40-gliederiger Ketten wuchsen, war für Bouillon etwas ähnliches nur bei Stamm IIIb zu bemerken.

In sterilisierter Milch erhält man fast durchweg typische Güntheri-Formen. Galtstamm XIIa zeigt sehr schöne Doppelstäbchen mit Spitzchen, Galtstamm XIIIb neben kleinen Kettchen kokkenförmige Einzel- und mit Spitzchen versehene Doppelindividuen, ebenso Galtstamm XIVa. Galtstamm XIVb wies seinerzeit nur sehr lange typische Streptokokkenketten auf, während er 8 Monate später gleich den übrigen von einem gewöhnlichen Güntheri nicht mehr zu unterscheiden ist.

## Physiologisches Verhalten.

a) Gerinnungszeit und Säureproduktion bei Kultur in sterilisierter Milch. (Siehe Tabelle XVI p. 61.)

1. Versuchsserie, ausgeführt im Mai 1905. Bei 20° C ist fast durchweg eine nach Tagen zählende Frist zur Gerinnung notwendig; ja diese kommt nicht einmal überall zu stande, selbst da nicht, wo sie der relativ hohen Säurezahl wegen erwartet werden dürfte, so bei den Stämmen Va und Vb aus Kuhkot, VIa und VIb aus Milch der Kühe

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Tabelle XVI.

Uebersichtliche Darstellung der Gerinnungszeit und Säuregrade bei Kultur in sterilisierter Milch.

| Stamm | Mai 1905 | | | | | | Februar 1906 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Bei 20° | | Bei 30° | | Bei 37° | | Bei 20° | | Bei 30° | | Bei 37° | |
| | Zeit | Säuregrad | Zeit | Säuregrad | Zeit | Säuregrad | Zeit | Säuregrad | Zeit | Säuregrad | Zeit | Säuregrad |
| Ia Güntheri aus Milch bei 37° | — | 1,3 | 72 Std. | 8,1 | 24 Std. | 7 | 12 Tage | 8 | 74 Std. | 6 | 64 Std. | 3,5 |
| Ib „ „ „ „ 37° | 7 Tage | 9,4 | 35 „ | 8,9 | 24 „ | 6,1 | 64 Std. | 8,2 | 24 „ | 8 | 24 „ | 5,3 |
| IIa „ „ „ „ 20° | 35 Std. | 11,5 | 15 „ | 11,1 | 14 „ | 11,6 | 64 „ | 9 | 64 „ | 7 | 4½ Tage | 6 |
| IIb „ „ „ „ 20° | 4 Tage | 11,2 | 24 „ | 8,6 | 24 „ | 10,1 | 64 „ | 9 | 24 „ | 7,8 | 12 Std. | 7,4 |
| IIIa „ „ Emmentalerkäse | — | 3,8 | 35 „ | 8,7 | 24 „ | 7,2 | 10 Tage | 7 | 40 „ | 8 | 17 „ | 7,3 |
| IIIb „ „ „ | — | 3,8 | 35 „ | 9,4 | 24 „ | 7,5 | — | — | 24 „ | 6,3 | 17 „ | 7,2 |
| IVa „ „ Gras | 8 Tage | 8,3 | 55 „ | 6,7 | 30 „ | 7,2 | 12 Tage | 7,7 | 64 „ | 6,5 | 46 „ | 5,5 |
| IVb „ „ „ | 12 „ | 9,9 | 72 „ | 7,4 | 30 „ | 9,8 | 5 „ | 10 | 40 „ | 7,8 | 24 „ | 9 |
| Va „ „ Kuhkot | — | 11,1 | 5 Tage | 5,9 | 48 „ | 5,1 | 6 „ | 8,5 | 40 „ | 6 | 40 „ | 6 |
| Vb „ „ „ | — | 6,3 | 6 „ | 5,6 | 48 „ | 5 | 10 „ | 10,3 | 64 „ | 5 | 40 „ | 5 |
| VIa Güntheri aus Güntheri-reicher Milch (Liesi) | — | 6,8 | 5 „ | 7,9 | 48 „ | 5 | 9 „ | 8 | 64 „ | 5 | 40 „ | 4 |
| VIb Desgl. (Waldi) | — | 6,8 | 5 „ | 6,4 | 48 „ | 5,5 | 12 „ | 9 | 74 „ | 4,5 | 40 „ | 5,4 |
| VIIa Güntheri-ähnl. Organismus aus Sauerbrut der Bienen | 48 Std. | 2,6 | 24 Std. | 6,4 | 30 „ | 7,5 | 40 Std. | 4,3 | 17 „ | 3,9 | 18 „ | 4,5 |
| VIIb Desgl. | 48 „ | 2,3 | 24 „ | 6,2 | 30 „ | 5,5 | 48 „ | 7,5 | 22 „ | 7,9 | 18 „ | 7,1 |
| VIII Günth. a. fadenziehend. Milch | 4 Tage | 11,8 | 24 „ | 7,2 | 24 „ | 7,6 | 3½ Tage | 10 | 26 „ | 7,5 | 17 „ | 6,4 |
| IX Güntheri aus Mazun | 10 „ | 11,5 | 3 Tage | 8,1 | 24 „ | 6,7 | 8 „ | 11 | 40 „ | 7 | 40 „ | 6 |
| Xa Günth. aus den Exkrementen einer Schmetterlingsraupe | + | + | + | + | + | + | — | 8,3 | 72 „ | 6 | 50 „ | 5 |
| Xb Desgl. | + | + | + | + | + | + | — | — | 12 Tage | 5,5 | 6 Tage | 4,7 |
| XIa Güntheri aus Gras | + | + | · | + | + | + | — | — | 5 „ | 6 | 64 Std. | 7 |
| XIb „ „ „ | + | + | + | + | + | + | — | 8 | 64 Std. | 5,2 | 40 „ | 5,5 |
| XIIa „ „ Kuhkot | + | + | + | · | + | + | — | — | — | — | — | — |
| XIIb „ „ „ | + | + | + | + | + | + | 10 Tage | 8,5 | 64 Std. | 7,5 | 40 Std. | 4 |
| XIIIa Galtstreptococcus, der Bouillon trübt | 72 Std. | 10,5 | 20 Std. | 7 | 20 Std. | 8,2 | 64 Std. | 9,8 | 17 „ | 7 | 17 „ | 6,9 |
| XIIIb Desgl. | — | — | 48 „ | 10,3 | 24 „ | 6,9 | 88 „ | 10 | 24 „ | 7,4 | 24 „ | 4,5 |
| XIVa Galtstreptococcus, der Bouillon klar läßt | 48 Std. | 11 | 20 „ | 11 | 24 „ | 8,9 | 64 „ | 8,4 | 24 „ | 7 | 17 „ | 6,4 |
| XIVb Desgl. | 5 Tage | 9 | 20 „ | 8 | 20 „ | 8,4 | 4 Tage | 13,2 | 40 „ | 8 | 24 „ | 8,4 |
| XVa Desgl. | + | + | + | + | + | + | 4½ „ | 8 | 26 „ | 6,5 | 24 „ | 4,6 |
| XVb Desgl. | + | + | + | + | + | + | 5 „ | 10,5 | 26 „ | 5,6 | 24 „ | 6 |

\+ bedeutet, daß die Gerinnungsversuche nicht gemacht wurden, weil die betreffenden Stämme damals noch nicht in unserem Besitze waren.
— bedeutet das Ausbleiben der Gerinnung bei einer Beobachtungszeit von mindestens 12 Tagen.

„Liese“ und „Waldi“. Das Ausbleiben der Gerinnung in diesem Falle scheint um so bemerkenswerter, als bei einer Temperatur von 30° wenigstens die zwei Güntheri aus Kuhkot weniger Säure produzierten, dabei aber das Dickwerden der Milch doch herbeiführen; fast ebenso verhalten sich die Güntheri von „Liese“ und „Waldi“. Die Erklärung für diese Tatsache ist vielleicht darin zu suchen, daß bei höherer Temperatur die Ausscheidung eines labähnlichen Enzyms die Säurewirkung unterstützt, während bei 20° die letztere allein zur Geltung gelangt. Die aus einer bei 20° zur Säuerung aufgestellten Milch gewonnenen Güntheri produzierten bei dieser Temperatur mehr Säure als die Güntheri aus einer bei 37° C aufgestellten Milch.

Ein eigentümliches Verhalten zeigen sodann die Güntheri-ähnlichen Organismen aus an Sauerbrut erkrankten Bienenlarven. Die Gerinnungszeit ist hier eine verhältnismäßig kurze und die Gerinnung dürfte nicht als eine durch Säure bewirkte, sondern auf Ausscheidung eines labähnlichen Enzyms beruhende aufzufassen sein. Interessant verhielten sich die allerdings schon damals im Zerfall begriffenen oder zerfallenen Galtstreptokokken XIIIa und XIVb, indem bei der niedrigen Temperatur weder die Güntheri, ein Fall ausgenommen, noch die übrigen Streptokokken die Gerinnung in so kurzer Zeit und mit so viel Säure herbeizuführen vermochten.

Die Temperatur von 30° brachte durchweg eine kürzere Gerinnungszeit mit relativ hoher Säureproduktion; wenn letztere da und dort hinter der bei 20° konstatierten zurückblieb, so ist der Grund wohl hauptsächlich darin zu suchen, daß bei einer Temperatur von 20° der genaue Zeitpunkt der Gerinnung infolge langsameren Verlaufs der Gärung besser festgehalten und die Säurebestimmungen gleichmäßiger ausgeführt werden konnten als bei 30°, wo man öfters gezwungen war, die Titration von erst mit der Gerinnung beginnenden Proben vorzunehmen, um über Nacht die Säure nicht allzusehr ansteigen zu lassen. Für die zerfallenen Galtstreptokokken gilt das oben Gesagte in erhöhtem Maße. Bei den Güntheri-ähnlichen Organismen aus Sauerbrut der Bienen scheint die Säuregerinnung die Labgerinnung mehr oder weniger zu verdecken.

Eine Temperatur von 37° scheint die Gerinnungszeit noch mehr einzuschränken, ohne daß ein proportionales Steigen der Säureproduktion damit Hand in Hand ginge. Auch hier wiederholt sich wie bei 30° bei den Stämmen Va und Vb aus Kuhkot, VIa und VIb von „Liesi“ und „Waldi“ die merkwürdige Erscheinung, daß eine geringere Säuremenge als die bei 20° konstatierte, zur Gerinnung aber nicht ausreichende, bei 37° die letztere doch herbeizuführen im stande ist.

Der Grund für die scheinbar längere Gerinnungszeit der Stämme aus Sauerbrut ist darin zu suchen, daß die Peptonisierung des ausgeschiedenen Käsestoffs das genaue Einhalten eines für alle Stämme gleichmäßigen Gerinnungsstadiums zur Unmöglichkeit machte. Bei den zerfallenen Streptokokken ist die Gerinnungszeit fast überall die gleiche geblieben; die Säurebildung ist bei Galtstamm XIIIa größer, bei den übrigen entweder gleich oder dann eher kleiner als bei 30°.

### 2. Versuchsserie, ausgeführt im Februar 1906.

Nebst den früheren inzwischen in Milch bei Zimmertemperatur aufbewahrten und monatlich einmal überimpften Stämmen gelangten neue Güntheri aus den Exkrementen einer Raupe, aus Gras und Kuhkot, sowie zwei weitere typische Galtstreptokokken zur Untersuchung.

Bei 20° macht sich im großen ganzen eine Anpassung des Säure-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bildungsvermögens an die eingehaltene Aufbewahrungstemperatur geltend. Stamm Ia aus Milch bei 37°, der früher die Gerinnung in 12 Tagen nicht zu stande brachte, führt diese nun bei entsprechend erhöhter Säureproduktion in genannter Zeit herbei. Stamm IIa aus Milch bei 20° braucht diesmal bei kleinerer Säuremenge mehr Zeit zur Gerinnung als im Sommer 1905. Ein Güntheri aus Emmentalerkäse bringt diesmal die Milch zur Gerinnung. Die Stämme IVa und IVb aus Gras verhalten sich gerade umgekehrt wie das frühere Mal. Die Vertreter Va und Vb aus Güntheri-reicher Milch, die früher die Gerinnung trotz hoher Säurezahlen nicht herbeizuführen vermochten, haben sich seither nach beiden Richtungen verbessert. Die Güntheri-ähnlichen Organismen VIIa und VIIb aus Sauerbrut der Bienen zeigen diesmal eine erhöhte Säureproduktion. Zuerst riefen die Kulturen, wie übrigens auch die bei 30° und 37° aufgestellten, den Eindruck einer reinen Säuregerinnung hervor, doch trat in allen Fällen nachträglich die Peptonisierung des Koagulums ein. Die alten Galtstreptokokken XIIa, XIIb, XIIIa und XIIIb bekundeten bezüglich der Gerinnungszeit und Säureproduktion ebensogroße Abweichungen wie die Güntheri. Eine mit den frisch isolierten Galtstreptokokken XVa und XVb beschickte Milch gerinnt erst nach 5 Tagen, läßt aber in der hohen Säurezahl 20° als Optimaltemperatur erkennen.

Der Gesamteindruck der bei 30° C erhaltenen Resultate spricht im allgemeinen für eine kürzere Gerinnungszeit im Vergleich zum Mai 1905, während die Säurezahlen ein recht schwankendes Verhalten der Gärkraft der einzelnen Stämme erkennen lassen. Stamm IIa aus Milch bei 20° C weist bei 4mal längerer Gerinnungszeit 4° weniger Säure auf als früher. Die alten Stämme aus Kuhkot und Güntheri-reicher Milch haben bei um die Hälfte kürzerer Gerinnungszeit etwas weniger Säure. Die alten Galtstämme produzieren im allgemeinen während einer teilweise länger gewordenen Gerinnungszeit weniger Säure als früher.

Bei 37° C ist die Gerinnungszeit teils länger, teils kürzer geworden als im Juni 1905; die Acidität ist hingegen entweder gleich geblieben oder dann gesunken, ein Umstand, der vielleicht als Anpassung an die eingehaltene Aufbewahrungstemperatur von 20° C gedeutet werden darf. Der Rückgang im Säurebildungsvermögen ist in manchen Fällen ein so bedeutender, daß man sich nur wundern muß, wie die Gerinnung trotzdem zu stande kommen konnte; so weist Stamm Ia aus Milch bei 37° nach einer Gerinnungszeit von 64 Stunden gerade einmal weniger Säure auf als Stamm Va aus Kuhkot, der trotz der Säurezahl 7 das „Dickwerden“ selbst nach 12 Tagen nicht herbeizuführen vermochte. Auffallend ist die Steigerung von 14 Stunden auf 4½ Tage beim Stamm IIa aus Milch bei 20° bei einmal geringerer Säureproduktion. Die Stämme VIIa und VIIb aus Sauerbrut der Bienen zeigen gegenüber den Versuchen im Mai eine um 12 Stunden verkürzte Gerinnungszeit und erinnern zum Teil stark an eine durch wirkliche Güntheri verursachte Gerinnung. Die alten Galtstämme zeigen eine kleine Verkürzung der Gerinnungszeit, auch ist die gebildete Säure etwas geringer gegen früher. Der neu isolierte Galt zeigt gegenüber 30° keine wesentlichen Unterschiede.

Gerinnungszeit und Säurezahlen lassen demnach keine Gesetzmäßigkeit erkennen, die zur Unterscheidung der einzelnen Stämme dienen könnten. Selbst Stämme ein und derselben Provenienz, die z. B. bei 37° übereinstimmende Zahlen aufweisen, differieren bei niederen Temperaturen derart, daß von scharf umschriebenen Standortsvarietäten nicht gesprochen werden kann. Wir gehen mit Schierbeck (38) einig,

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenn er sagt, daß es möglich sei, aus der nämlichen Milch oder aus verschiedenen Proben spontan geronnener Milch Milchsäurebakterien mit gleichen morphologischen und kulturellen Eigenschaften, aber mit verschiedenem Gärvermögen zu ziehen, und dehnen diese Behauptung auf alle von uns herangezogenen Güntheri-Quellen aus.

Tabelle

Uebersichtliche Darstellung der Säuregrade bei Kultur in

| Stamm | | Dextrose | | | | Lävulose | | | | Laktose | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | in Fleischbouillon | | in Extraktbouillon | | in Fleischbouillon | | in Extraktbouillon | | in Fleischbouillon | | in Extraktbouillon | |
| | | Säuregrad | | Säuregrad | | Säuregrad | | Säuregrad | | Säuregr. | | Säuregr. | |
| | | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 |
| Ia | Güntheri a. Milch b. 37° | 0,3 | 4,8 (10) | 8,6 | 8,8 | 0 | 1,4 (9) | 7,6 | 7,2 | 3,4 | 5 | 5 | 5 |
| Ib | „ „ „ „ „ | 7,5 | 7,6 | 8,2 | 8,4 | 5,8 | 5,1 | 8 | 8 | 5,4 | 6,4 | 6,8 | 7,2 |
| IIa | Güntheri a. Milch b. 20° | 0,3 | 7,8 | 8,4 | 8,4 | 6,2 | 7,3 | 9 | 9,2 | 2,1 | 2,8 | 3 | 2,8 |
| IIb | „ „ „ „ „ | 12,5 | 10,4 (11) | 11,4 | 11,2 | 12,7 | 10,4(13,4) | 12,2 | 12,4 | 5,7 | 6,9 | 6,4 | 6,6 |
| IIIa | Güntheri aus Emmentalerkäse | 5,3 | 5,3 | 5 | 5,2 | 1,4 | 3,5 | 3,2 | 3,4 | 5 | 5 | 6,4 | 6,6 |
| IIIb | Güntheri aus Emmentalerkäse | 3,5 | 4,2 | 8,2 | 8,6 | 1,8 | 3,6 | 4,6 | 4,2 | 4,2 | 4,4 | 7,4 | 7,6 |
| IVa | Güntheri aus Gras | 10 | 9,2 | 11 | 12 | 11 | 9,2 | 12 | 12 | 5,3 | 6,2 | 6 | 6,1 |
| IVb | „ „ „ | 9,8 | 9,5 | 9,4 | 9 | 8,8 | 9,2 | 9 | 9 | 4,8 | 5,6 | 6 | 6 |
| Va | Güntheri aus Kuhkot | 11,3 | 11,3 | 10,4 | 11 | 12,3 | 12,5 | 12.6 | 12,6 | 7,3 | 7,1 | 7,4 | 7,2 |
| Vb | „ „ „ | 11,6 | 12 | 11,6 | 11 | 12,4 | 12,4 | 12,8 | 12 | 7,4 | 7 | 6,6 | 6,2 |
| VIa | Güntheri a. Güntherireicher Milch („Liesi“) | 11 | 12,9 | 11,4 | 11,4 | 11,7 | 11,8 | 12 | 11,6 | 6 | 7,1 | 6,2 | 6,4 |
| VIb | Güntheri a. Güntherireicher Milch („Waldi“) | 11 | 12,5 | 12,4 | 11,8 | 11,7 | 12 | 11,8 | 11 | 6 | 7,4 | 7 | 6,8 |
| VIIa | Güntheri-ähnliche Organismen a. Sauerbrut der Bienen | 8,1 | 11,6 | 11 | 11 | 7,7 | 12,5 | 10,6 | 11 | 2,4 | 8 | 6,6 | 7 |
| VIIb | Güntheri-ähnliche Organismen a. Sauerbrut der Bienen | 7,9 | 8,2 | 9 | 8,4 | 8,3 | 10,8 | 9,6 | 9 | 5,1 | 7,3 | 5,4 | 5,2 |
| VIII | Güntheri aus fadenziehender Milch | 11 | 14,5(12,5) | 12 | 12 | 10,5 | 11 | 11,4 | 11,4 | 5,5 | 8,5(7,5) | 7,4 | 7,4 |
| IX | Güntheri aus Mazun | 11 | 11 | 11 | 11,4 | 11,5 | 14 | 10,2 | 10,2 | 6,8 | 8,5 | 6,8 | 7 |
| Xa | Güntheri aus den Exkrementen ein. Schmetterlingsraupe | 7,3 | 12,5(11,5) | 12 | 12 | 7 | 11,5 (8,5) | 5 | 5,4 | 3,4 | 8,7(6,3) | 5 | 5,4 |
| Xb | Güntheri aus den Exkrementen ein. Schmetterlingsraupe | 5,7 | 7,8(12,1) | 6,6 | 6,4 | 5,9 | 11,5 | 6,6 | 7,2 | 4,5 | 8 (5,3) | 4,8 | 4,4 |
| XIa | Güntheri aus Gras | 9,7 | 12,5(10,5) | 10 | 9,4 | 10,5 | 11 | 10,6 | 10,4 | 5,6 | 8 (8,2) | 6,4 | 6,2 |
| XIb | „ „ „ | 8,8 | 10,5 | 8,2 | 8.4 | 8,3 | 9,5 | 8,2 | 8,6 | 5,2 | 5,3 | 6,6 | 6,4 |
| XIIa | Güntheri aus Kuhkot | 2,3 | 3,6 (3) | 3 | 3,4 | 2,5 | 3,5 | 3,2 | 3,4 | 2,4 | 3 | 3,2 | 3 |
| XIIb | „ „ „ | 7,8 | 12,5(11,3) | 9 | 9 | 7 | 12,4 (10) | 10 | 10 | 5,2 | 9,5 (7) | 8 | 8,2 |
| XIIIa | Galtstreptococcus, der Bouillon trübt | 9 | 12 (11) | 12 | 11,6 | 9,4 | 12 (12,8) | 10,4 | 11 | 5,9 | 8,3 (8) | 6,6 | 9 |
| XIIIb | Galtstreptococcus, der Bouillon trübt | 11,2 | 13 | 11,4 | 11,2 | 12,6 | 13 | 10,4 | 11,2 | 7 | 8,3 | 7 | 7,2 |
| XIVa | Galtstreptococcus, der Bouillon klar läßt | 8,5 | 10,5 | 8,8 | 8,6 | 7,5 | 12 (12) | 8,4 | 8,6 | 6,5 | 10 (9) | 7,4 | 7,4 |
| XIVb | Galtstreptococcus, der Bouillon klar läßt | 9,7 | 12 | 8,6 | 8.2 | 9,1 | 11,5 | 9,4 | 9,4 | 5,3 | 8,5(6,5) | 6,6 | 6,8 |
| XVa | Galtstreptococcus, der Bouillon klar läßt | 5,2 | 16,6 | 12.7 | 5 (5,2) | 4,6 | 16,5 | 7,5 | 4,8 (5) | 3,9 | 10,5 | 7 | 4 (4,2 |
| XVb | Galtstreptococcus, der Bouillon klar läßt | 5,5 | 10,6 | 8,5 | 5,4(5,6) | 4,3 | 9,5 | 7,5 | 4,4(44) | 3,9 | 8,2 | 7,5 | 4,4(4 |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) **Wachstum und gebildete Säure in einer 1 Proz. Traubenzucker enthaltenden mineralischen Nährlösung bei variierender Stickstoffquelle.**

Wir können uns hierüber kurz fassen. Der mit 1 Proz. Dextrose versehenen Nährlösung wurde abwechselnd $1/2$ Proz. Asparagin, Kalinitrat,

XVII.

entzuckerter Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen.

| Maltose | | | | Saccharose | | | | Arabinose | | | | Mannit | | | | Glycerin | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| in Fleisch-bouillon | | in Extrakt-bouillon | | in Fleisch-bouillon | | in Extrakt-bouillon | | in Fleisch-bouillon | | in Extrakt-bouillon | | in Fleisch-bouillon | | in Extrakt-bouillon | | in Fleisch-bouillon | | in Extrakt-bouillon | |
| Säuregr. | | Säuregr. | | Säuregrad | | Säuregrad | | Säuregr. | | Säuregr. | | Säuregr. | | Säuregr. | | Säuregrad | | Säuregrad | |
| Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 | Nv. 05 | Dez.05 | Jan.06 | Jan.06 |
| 0,8 | 0 | 5,2 | 5 | 3,2 | 4,4 | 7,2 | 6,8 | 0,2 | 1,6 | 4,2 | 4,2 | 0 | 0 | 3,8 | 4,4 | 0 | 0 | 0,8 | 0,8 |
| 5,4 | 6,5 | 7,8 | 7,6 | 6,4 | 6 | 7 | 6,8 | 0,2 | 1,2 | 0,6 | 0,8 | 2,4 | 3,3 | 4,4 | 4,2 | 0,2 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 2,5(9) | 8 | 8 | 0,1 | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 1,3 | 1 | 1,6 | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,4 | 0,4 |
| 6,2 | 7,2 | 8,4 | 8 | 0 | 0(1,5) | 0 | 0 | 0 | 1,3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | 0,4 | 1 | 1,2 |
| 0 | 0,5 | 0 | 0 | 3,2 | 4,5 | 5 | 5 | 0,4 | 1,4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,7 | 0,5 | 0 | 0 | 6,2 | 3,4(8,5) | 3,8 | 3,6 | 0,3 | 1,3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8,4 | 6,4(11) | 7 | 6,8 | 6,9 | 6,8(11,5) | 7 | 7,2 | 3,9 | 4,2 | 5 | 4 | 2,4 | 3,2 | 4 | 3,8 | 0,2 | 0,3 | 1 | 1 |
| 6,7 | 6,4 | 6,4 | 7 | 6,8 | 7 | 0 | 0 | 6,8 | 6,1 | 6 | 6 | 2,3 | 3,2 | 3,6 | 4 | 0,1 | 0,3 | 1 | 1 |
| 9,3 | 9 | 7,4 | 7,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 0 | 1,2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,4 | 0,4 |
| 9,3 | 9,5 | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0(1) | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 8,4 | 9,2 | 8,4 | 8,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | 1,2 | 1,2 | 0,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 0,8 |
| 8,5 | 10 | 8 | 8,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | 1,5 | 1 | 1,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | 1 | 0,6 | 0,6 |
| 6,5 | 9,5 | 8,4 | 8,4 | 5 | 6 | 5 | 5 | 0,9 | 1,8 | 1,4 | 1,2 | 5,2 | 5,3 | 5 | 5 | 2,5 | 4,5 | 4,4 | 4 |
| 6,6 | 7,8 | 8,4 | 8 | 3,2 | 5,6 | 5 | 4,8 | 0,9 | 1,8 | 1,4 | 1,4 | 4 | 5,8 | 5 | 5,2 | 2,6 | 5,1(4,5) | 4,2 | 4,4 |
| 7,5 | 5,8 | 8,8 | 8,6 | 0 | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,6 | 0,6 |
| 9,4 | 10(12) | 8 | 8,2 | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,6 | 0,8 | 1 |
| 3,7 | 8,5(6,7) | 5 | 5 | 4,2 | 4,5(8,3) | 6 | 5,8 | 4,2 | 7,2(5) | 5,4 | 5,6 | 2,3 | 6,5(3,8) | 3,6 | 3,4 | 0,9 | 1,3 | 0,6 | 0,8 |
| 5,2 | 10,2(7) | 5,6 | 5,8 | 4,3 | 8,3(4,5) | 4,6 | 4,8 | 4,9 | 8(5) | 4,6 | 4,8 | 3,9 | 6,4(3,8) | 4 | 3,6 | 1 | 1,4 | 1,2 | 1,4 |
| 7,4 | 8,9 | 7 | 7,2 | 0 | 0,5 | 0 | 0 | 5,5 | 8,8(8) | 6 | 6,4 | 2,3 | 5.2(4,8) | 4,2 | 4 | 0 | 0,2 | 0.8 | 0,8 |
| 6,4 | 5,7 | 7 | 6,8 | 5,5 | 7,5 | 7,2 | 7 | 0 | 0,1 | 1 | 1,2 | 3.2 | 5,2 | 4,8 | 4,4 | 2,9 | 4,7(3,4) | 3,6 | 4 |
| 2 | 3,6 | 3,2 | 3 | 2,2 | 3 | 2,8 | 3 | 1 | 3,6 | 3,2 | 3 | 1,8 | 2,4 | 3,2 | 3,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| 6 | 10,5(9) | 6,9 | 6,6 | 6 | 9(9) | 6,6 | 7 | 1,3 | 2,5 | 1,2 | 1,2 | 3,4 | 4,4 | 4,4 | 4,4 | 3 | 5 | 3,8 | 4 |
| 8,4 | 10 | 9,6 | 8,8 | 0 | 0 | 0,2 | 0 | 1,1 | 9,5(9,5) | 7,8 | 7,4 | 3,4 | 5,3 | 7,6 | 4 | 0 | 1,1 | 0,6 | 1 |
| 8,9 | 10,5 | 9 | 8,6 | 4,6 | 6,7 | 4,5 | 4,5 | 0 | 2 | 1,6 | 1,6 | 4,1 | 6,7(5,2) | 4,4 | 4,6 | 0 | 0,9 | 0,8 | 0,8 |
| 6,5 | 11(10,3) | 7,8 | 8 | 0 | 0,2 | 0 | 0 | 0 | 1,5 | 1,4 | 1,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0 | 0,1 |
| 6,6 | 8,5 | 7,6 | 8 | 0,6 | 0,5 | 0 | 0,2 | 5 | 5,5 | 5 | 5,6 | 3,8 | 5,6 | 4,2 | 4,2 | 0,5 | 1,3 | 0,8 | 0,6 |
| 3,8 | 14,2 | 6,2 | 5,6(5,2) | 2,9 | 1‘4 | 5,5 | 2,6(2,4) | 1,2 | 2,6 | 2 | 1,8(2) | 0 | 0,9 | 0,8 | 0,2(0) | 0,4 | 1,5 | 1,3 | 0,4(0,6) |
| 3,8 | 9 | 6,5 | 5(5,2) | 2,3 | 7,9 | 5,3 | 2,2(2,4) | 1,1 | 2,3 | 1,5 | 1(1,2) | 0 | 1 | 0,7 | 0(0) | 0,5 | 1,2 | 1 | 0(0) |

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weinsaures Ammon und Pepton beigegeben, nach fraktionierter Sterilisation die Gläschen mit den entsprechenden Reinkulturen beschickt und während 48 Stunden in den 30°-Schrank gestellt. Es trat aber nur bei Peptonzusatz Wachstum ein; mit Ausnahme der Güntheri IIIa und IIIb aus Emmentalerkäse und XIa aus Kuhkot darf hier das Wachstum bei allen Stämmen als ein intensives bezeichnet werden. Zur Neutralisation der in 10 ccm Kulturflüssigkeit gebildeten Säure bedurfte es bei den eigentlichen Güntheri gewöhnlich 1—1,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH, beim zerfallenen Galt hingegen meist 1,7—2 ccm, beim nicht zerfallenen nur 0,6—0,7 ccm. Die Hoffnung, bei Verabreichung größerer Mengen stickstoffhaltiger Substauz eventuell auch bei den drei anderen N-Quellen Wachstum eintreten zu sehen, blieb unerfüllt; die Säurezahlen schnellten allerdings bei Pepton stark in die Höhe, in den übrigen Gläschen trat aber auch diesmal kein Wachstum ein. Da die geringen Unterschiede im mikroskopischen und makroskopischen Bild sowie in der Säureproduktion keine weiteren Schlußfolgerungen gestatten, verzichten wir darauf, den Versuch in extenso wiederzugeben.

c) Wachstum und Säureproduktion in entzuckerter Bouillon unter Zusatz wechselnder Kohlenstoffquellen. (Tabelle XVII. p. 748, 749.)

Das typische Bact. Güntheri besitzt bekanntermaßen die Fähigkeit, gewisse Zuckerarten auf zymotischem Wege ziemlich nebenproduktlos in Milchsäure überzuführen. Wenn die kulturellen und morphologischen Merkmale uns bisher keine Handhabe zur Klassifikation der untersuchten Stämme geliefert haben, so könnte man geneigt sein, auf Grundder Arbeiten von Leichmann (l. c.) und Kozaï (l. c.) eine solche in der Konfiguration der gebildeten Milchsäure zu suchen, namentlich auch deshalb, weil die Entdeckung einer optisch inaktiven Güntheri-Varietät aus sauren Gurken durch Aderhold (1) zu Gunsten dieses diagnostischen Merkmals spricht. Die Forschungen von Péré (36), Pottevin (37) und Kayser (23) haben aber die Variabilität auch dieser Eigenschaft so klar dargetan, daß trotz den zu Gunsten des Wertes der optischen Natur der gebildeten Säure sprechenden neueren Arbeiten von Kozaï (26) und Harden (20) wir darauf verzichten zu können glaubten, unsere Arbeit nach dieser Richtung auszudehnen, um so mehr, da wir das eher Erfolg versprechende Verhalten unserer Güntheri-Stämme gegenüber verschiedenen Zuckerarten und einigen anderen Kohlenstoffquellen näher zu verfolgen gedachten.

Für die Tatsache, daß sich die Zuckerarten gegenüber den Milchsäurebakterien verschieden verhalten, gibt die von E. Fischer (14) dargelegte Beziehung zur sterischen Konfiguration eine vorzügliche Erklärung. Wie für die Hefen, ist auch für die Milchsäurebakterien die Anwesenheit eines Enzyms, und zwar eines Endoenzyms, nachgewiesen worden. Die Vergärbarkeit einer Zuckerart hängt nach Fischer von der Anwesenheit eines sterisch spiegelbildlich konstruierten Enzyms der in Betracht gezogenen Milchsäurebakterien ab. „Enzym und Substanzmolekül müssen wie Schlüssel und Schloß ineinanderpassen.“ Vorausgesetzt, die Natur des Enzyms sei nach Bakterienart und Varietät eine verschiedene, müßte ein mit verschiedenen Bakterienvarietäten und verschiedenen Kohlehydraten durchgeführter Gärversuch, wenn auch nicht eine Einteilung ermöglichen, so doch wertvolle Anhaltspunkte liefern. Von solchen Erwägungen geleitet, schritten wir an die Ausführung unseres Versuches, dessen Anordnung schon früher einmal einläßlich besprochen wurde.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es erübrigt hier nur noch eine kurze Bemerkung über die Wahl der Kohlehydrate, um sodann mit einer eingehenden Besprechung der erhaltenen Resultate zu beginnen.

Unsere Wahl fiel in erster Linie auf Traubenzucker (Dextrose), eine Aldohexose und Fruchtzucker (Lävulose), eine Ketohexose, als allein durch Enzym in direkte Gärung versetzbare Monosen; dazu gesellten sich die aus zwei Hexosen zusammengesetzten Biosen Milchzucker (Laktose), Malzzucker (Maltose), Rohrzucker (Saccharose), die nach allgemeiner Annahme nur indirekt, d. h. nach vorheriger Ueberführung in Monosen, in Gärung übergehen. Als Vertreter der Pentosen wählten wir Arabinose. Da nach A. Fischer (l. c.) der sechswertige Alkohol Mannit durch das Bacterium Güntheri nicht vergoren werden soll, zogen wir auch dieses Kohlehydrat nebst einem dreiwertigen Alkohol, dem Glycerin, in die Versuche hinein.

Aus diesen mit verschiedenen Kohlenstoffquellen bei gleichbleibender N-Quelle gemachten Versuchen glauben wir nun folgende Schlüsse ziehen zu können:

1) Nach der Menge der nach Verlauf von 7 Tagen bei 30° produzierten Säure zu schließen, eignen sich die einzelnen Kohlenstoffquellen, wie folgt, zur Vergärung:

Verbrauch an $\frac{n}{10}$ NaOH pro 20 ccm Nährbouillon:

| a) Güntheri-Stämme | Mittel pro Stamm | b) Galtstämme | Mittel pro Stamm |
|---|---|---|---|
| Dextrose | 9,45 ccm | Dextrose | 9,36 ccm |
| Lävulose | 9,07 „ | Lävulose | 8,84 „ |
| Maltose | 6,74 „ | Maltose | 7,79 „ |
| Lactose | 6,09 „ | Lactose | 6,79 „ |
| Saccharose | 3,04 „ | Arabinose | 3,2 „ |
| Arabinose | 2,19 „ | Mannit | 2,53 „ |
| Mannit | 2,19 „ | Saccharose | 1,91 „ |
| Glycerin | 1,36 „ | Glycerin | 0,6 „ |

NB. Da der Stamm Ia aus Milch bei 37° in dem mit Fleischbouillon durchgeführten Versuche aus früher schon angedeuteten Gründen keine zuverlässigen Resultate lieferte und sich im allgemeinen eine große Variabilität des Gärungsvermögens geltend machte, wurde bei Erhebung der Durchschnittszahlen bei den Güntheri und den zerfallenen Galtstämmen XIIIa, XIIIb, XIVa und XIVb nur der mit Liebigs Fleischextrakt durchgeführte Versuch berücksichtigt; bei den neu isolierten Galtstämmen XVa und XVb sahen wir uns genötigt, den Durchschnitt aus allen 5 Versuchen zu ziehen.

2) Nach dem Säureproduktionsvermögen geordnet, ergaben sich für die einzelnen Kohlenstoffquellen folgende Reihen der untersuchten Stämme:

(Folgt Tabelle p. 752, 753.)

3) Die geprüften Galtstämme produzieren im Mittel in Lävulose, Glycerin, Saccharose etwas weniger Säure als Bacterium Güntheri, mehr hingegen in Maltose, Laktose und Arabinose.

4) Die größte konstatierte Säuremenge wurde vom Galtstamm XVa in Anwesenheit von Dextrose produziert (16,6), dann folgt das fadenziehende Güntheri XIII in Lävulose (15). Mehrere Stämme produzieren in Glycerin, Mannit und Saccharose keine Säure (siehe Tabelle).

5) Der die Bouillon trübende Galtstamm XIIIa produzierte aus den gebotenen Kohlenstoffquellen am meisten Säure; ihm folgt der Güntheri-ähnliche Organismus aus Sauerbrut der Bienen VIIa, das Güntheri IVa aus Gras, XIIb aus Kuhkot, der zerfallene Galt XIIIb etc.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dextrose | XVa | VIII | XIIIb | VIa | VIb | Xa | Xb | IIb | XIa | XIIb | Vb | IVa | XIVb |
| Lävulose | XVa | IX | IIb | XIIIb | XIIIa | Vb | Va | VIIa | XIIb | VIa | VIb | IVa | XIVa |
| Laktose | XVa | XIVa | XIIb | XIIIa | Xa | VIII | IX | XIVb | XIIIb | XIa | XVb | VIIa | Xb |
| Maltose | XVa | IX | XIVa | IVa | XIIb | XIIIb | Xb | VIb | XIIIa | VIIa | Vb | Va | Va |
| Saccharose | IVa | XIIb | IIIb | Xa | Xb | XVb | XIb | Ia | Ib | IVb | XIIIb | VIIa | VIIb |
| Arabinose | XIIIa | XIa | Xb | Xa | IVb | XIVb | IVa | Ia | XIIa | XVa | XIIb | XVb | XIIIb |
| Mannit | XIIIa | XIIIb | Xa | Xb | VIIb | XIVb | VIIa | XIa | XIb | Ia | Ib | XIIb | IIIa |
| Glycerin | VIIb | XIIb | XIb | VIIa | XVa | Xb | Xa | XIVb | XVb | IIb | IIIa | IIIb | Vb |

NB. Berücksichtigt wurden nur die Stämme, die einen Säuregrad

Am wenigsten Säure produzierten die Stämme IIIa und IIIb aus Emmentalerkäse und Stamm XIIa aus Kuhkot.

6) Wenn auch bedeutende Unterschiede in der Säureproduktion zu Tage treten, so scheint es doch unzulässig, gestützt auf die erhaltenen Säurezahlen, ein System der zur Untersuchung gelangten Organismen aufzubauen; denn auch unter Stämmen gleicher Provenienz ist das Säurebildungsvermögen oft ganz bedeutenden Schwankungen unterworfen; so lieferte der Kuhkot zwei Güntheri, von denen das eine an der Spitze der Säureproduktion stand, während das andere auffallend wenig Säure produzierte.

7) Die Säureproduktion variiert bei ein und demselben Stamme beinahe von Versuch zu Versuch; man kann fast sagen: so viel zeitlich verschiedene Versuche, so viel verschiedene Resultate.

8) Wenn man die Beziehungen untersucht zwischen der Herkunft eines Stammes (sei es Güntheri oder Galt) und seinem Säureproduktionsvermögen bei der Darreichung eines bestimmten Kohlehydrates, so ist keineswegs zu konstatieren, daß der betreffende stets aus demjenigen am meisten Säure zu erzeugen vermag, das in seiner natürlichen Unterlage vorherrschend ist. Beispielsweise kann das aus Milch isolierte Güntheri sehr leicht aus Traubenzucker mehr Säure produzieren als aus Milchzucker, an welchen es doch eher angepaßt sein sollte.

## G. Schlußsätze.

1) Die in vorliegender Arbeit beschriebenen Stämme des Bacterium Güntheri L. et N. zeigen unter sich weder in kultureller noch in morphologischer Hinsicht durchgreifende Unterschiede. Eine Ausnahme macht der Stamm aus „Sauerbrut der Bienen“, welcher als eine verflüssigende Parallelform des nicht verflüssigenden Bacterium Güntheri aufzufassen ist.

2) Bezüglich des Verhaltens gegenüber verschiedenen Kohlehydraten haben die Güntheri-Stämme verschiedener Provenienz keine strengen Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen. Am meisten Aussicht für diagnostische Verwertung bieten auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials weitere vergleichende Gärversuche mit Laktose, Maltose und Saccharose.

3) Eine Beeinflussung des Säureproduktionsvermögens durch die fortgesetzte Züchtung auf zweckmäßig ausgewählten Nährböden ist möglich sowohl im Sinne einer Steigerung als im Sinne einer Abschwächung. Doch sind die in unseren Versuchen erreichten Aus-

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| XIIIa | VIIa | IX | Va | XVb | XIVa | XIb | Ia | IVb | VIIb | IIIb | Ib | IIa | IIIa | XIIa |
| Xa | Xb | XIVb | VIII | XIa | VIIb | XVb | XIb | IIIb | IIa | Ia | Ib | IIIb | IIIa | XIIa |
| VIIb | IIIb | Va | Vb | VIb | Ib | VIa | IIb | IIIa | XIb | IVa | IVb | Ia | IIa | XIIa |
| IIa | XVb | XIa | VIII | Xa | XIVb | VIIb | IIb | Ib | IVb | XIb | Ia | XIIa | | |
| XVa | IIIa | XIIa | | | | | | | | | | | | |
| VIIa | VIIb | IIa | VIb | XIVa | IIIa | IIb | IIIb | Ib | Va | VIa | VIII | IX | XIb | Vb |
| IIIb | XIIa | XVb | XVa | | | | | | | | | | | |
| IX | XIIIa | XIIIb | VIa | VIb | | | | | | | | | | |

von über 0,5 aufwiesen.

schläge verhältnismäßig gering und sprechen dafür, daß im ganzen der Grad der physiologischen Wirksamkeit, den ein Stamm bei seiner Isolierung aus der natürlichen Unterlage zeigt, bei seiner Weiterzüchtung mehr oder weniger festgehalten wird.

4) Zwischen dem Bacterium Güntheri und dem Streptococcus agalactiae Ad. besteht eine Verwandtschaft, welche sich darin äußert, daß das kulturelle Verhalten und das Vermögen, aus verschiedenen Zuckerarten Säure zu bilden, bei beiden Organismen ungefähr dasselbe ist.

5) Diese Anschauung erhält eine weitere Stütze durch die Tatsache, daß unter bestimmten Züchtungsverhältnissen die genannten Streptokokken in Formen auftreten, die sie von dem gewöhnlichen Bacterium Güntheri nicht unterscheiden lassen. Umgekekrt ist für Bacterium Güntheri das Auftreten in streptokokkenähnlichen Zellverbänden keine Seltenheit. Hieraus erklären sich die in der Literatur vielfach festzustellenden Verwechselungen der gemeinen Milchsäurebakterien mit den Streptokokken.

6) Die Voraussetzung, daß in den pathogenen Streptokokken an parasitische Verhältnisse angepaßte Milchsäurebakterien (Bact. Güntheri) vorliegen, deckt sich mit unseren Befunden insofern, als es bei verschiedenen (Galt) Streptokokkenstämmen in deutlich verschiedenem Grade gelungen ist, eine Ueberführung in Formen, welche denen des Bacterium Güntheri entsprechen, zu bewerkstelligen. Wenn ein Verwandtschaftsverhältnis in gedeutetem Sinne besteht, so ist es durchaus erklärlich, wenn man pathogenen Rassen begegnet, die sich in verschiedenen Abständen von der Stammform befinden, oder, was dasselbe bedeutet, die verschiedene Grade der Konstanz ihrer Eigenschaften erworben haben.

### Literatur.

1) Aderhold, Arbeiten aus der botanischen Abteilung des Kgl. pomologischen Instituts zu Proskau. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. p. 511.)
2) Ankersmit, Untersuchungen über Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. p. 359.)
3) Bang, Aarsagerne til Yverbetaendelse hos Koaeget. (Tjortende Beretning fra den Kgl. Landökonomiske Forsög. Kjøbenhaven 1889.)
4) Beck, M., Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. (Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1900. p. 430.)
5) Beijerinck, M. W., Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXV. 1902.
6) Burri, R., Zur Isolierung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 533.)



Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7) Burri, R., Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei (Ibid. Bd. XII. p. 192.)
8) —, Bakteriologische Untersuchung über die Faulbrut und Sauerbrut der Bienen. Aarau 1906.
9) Milton Earle McDonnell, Ueber Milchsäurebakterien. [Diss.] Kiel 1899.
10) Düggeli, M., Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. p. 577.)
11) East, G. L., The pathology of milk. (Brit. med. Journ. 1899.)
12) Esten, W. M., 9 Ann. Rep. Storrs. Agr. Exp. Stat., Storrs. Conn. 1896.
13) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.
14) Fischer, E., Bericht der deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXVII. 1894. p. 2985. Bd. XXVIII. 1895. p. 1429.)
15) Gordan, Eignet sich Wasserstoffsuperoxyd zum Sterilisieren der Milch. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. p. 716.)
16) Gröning, Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarms und des Stallbodens. [Diss.] Bern 1901.
17) Grotenfeld, Fortschritte der Medizin. Bd. VII. 1889. Heft 4. p. 121.
18) Guilbeau, Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. IV. 1890.)
19) Günther und Thierfelder, Arch. f. Hyg. Bd. XXV. p. 164.
20) Harden, A., Proceed. chem. soc. Vol. XVII. 1900. p. 57; Refer. im Chem. Centralbl. Bd. I. p. 1061.
21) Hess und Borgeand, Eine kontagiöse Euterentzündung, gelber Galt genannt. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XXX. 1888.)
22) Hölling, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum Streptococcus lanceolatus (Pneumoniecoccus, Enterococcus etc.). [Diss.] Bonn 1904.
23) Kayser, E., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1894. p. 737.
24) Klein, Ueber zwei neue pyogene Mikroben, Streptococcus radiatus und Bact. diphtheroides. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 417.)
25) Kozai, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 337.
26) —, ibid. Bd. XXXVIII. 1901. p. 386.
27) Kruse, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum Streptococcus lanceolatus (Pneumoniecoccus, Enterococcus etc.). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. p. 737.)
28) Kruse und Pansini, Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae und verwandte Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. II.)
29) Laxa, O., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. p. 755.
30) Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. 1. Aufl. 1896. p. 242.
31) —, ibid. 3. Aufl. 1904.
32) Leichmann, Milchztg. 1894. No. 33.
33) —, ibid. 1896. No. 5.
34) Nocard et Mollereau, Sur une mammite contagieuse des vaches laitières. (Arch. vétér. 1884.)
35) Lucet, Sur la nature infectieuse des mammites chez la vache. (Réc. de méd. vétér. T. VIII. p. 895.)
36) Péré, A., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. VII. 1893. p. 737.
37) Pottevin, H., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. p. 49.
38) Schierbeck, Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien in Bezug auf ihre Gärfähigkeit. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVIII. Heft 3.)
39) Schweitzer, Milchhygienische Studien (Untersuchungen über die durch Bacterium lactis acidi hervorgerufene Milchsäurebildung). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. p. 512.)
40) Smith, T., Ueber den Nachweis des Bacterium coli commune. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XVIII. p. 499.)
41) Stark, Beiträge zur pathologischen Anatomie der Agalactiae catarrhalis-contagiosa (Kitt, gelber Galt). [Diss.] Zürich 1903.
42) Steiger, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung von Kuh und Ziege. [Diss.] Bern 1904.
43) Storch, W., 18 Beretn. Kgl. Veterin. Landbohojsk., Labor. f. Landökonomisk. Forsög 1890.
44) Troili-Petersson, Gerda, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII. 1899. p. 261.
45) Utz, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. p. 739.
46) Weigmann, Milchztg. 1896. No. 10 u. 11.
47) Zschokke, Beitrag zur Kenntnis des gelben Galtes. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. VII. 1895.)
48) v. Freudenreich, Milchsäurefermente und Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 674.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## Nachtrag.

Nach Abschluß vorliegender Arbeit wurden wir mit der Mitteilung von M. Kaiser (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. p. 51) bekannt, welcher bei Untersuchung einer großen Zahl von in Graz erhobenen Milchproben in 76,6 Proz. der Fälle Streptokokken nachgewiesen haben will. Wir sind der Meinung, daß auch dieser Befund zum Teil auf Rechnung einer Verwechselung der Streptokokken mit harmlosen Bact. Güntheri zu setzen ist und daß die in unserer Arbeit dargelegten Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den genannten Organismen eine quantitative Bestimmung der Streptokokken nach dem Petruschkyschen Verfahren überhaupt unmöglich machen. Gerade das letztere (Verimpfung der Milch in abgestuften Quantitäten auf Bouillon und Aufstellen im Brutschrank) scheint die dem Bact. Güntheri innewohnende Tendenz zum Wachstum in kettenförmigen, also streptokokkenähnlichen Verbänden zu begünstigen, wie wir uns anhand der Prüfung einer größeren Zahl von Milchproben überzeugen konnten.

---

Vorliegende Arbeit wurde im landw.-bakt. Laboratorium des Eidg. Polytechnikums ausgeführt. Ich benutze die Gelegenheit, den Herren Prof. Dr. Burri und Dr. Düggeli für ihre schätzbare Hilfe und die während der Ausführung der Arbeit erhaltenen Anregungen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

---

*Nachdruck verboten.*

# Einige Untersuchungen und Beobachtungen an den echten Milchsäureerregern des Molkereigewerbes.

Von Dr. **Th. Gruber,** Hamburg.

Bei einer größeren Arbeit über die Beziehung der Bakterienflora der Milch zu Streu und Kot einerseits, andererseits zu Gras und Kot, beziehungsweise über die Feststellung, welches von den drei Medien, Streu, Kot oder Gras, das Hauptkontingent der Milchflora stellt, fiel es auf, daß nach der folgenden Methode zur Isolierung der einzelnen Bakterienarten keine wirklichen Milchsäurebakterien gefunden werden konnten.

Die Milch wurde so steril wie möglich aufgefangen, das Euter der Kuh wurde mit lauwarmem Wasser und Seife gründlich gereinigt, alsdann gut abgetrocknet, der Melkende selbst mußte seine Hände gut abseifen, mit reinem Wasser nachspülen, mit einem Tuch völlig trocknen und trocken melken. Die Milch wurde mittelst eines sterilen Trichters in eine sterile Flasche aufgefangen, möglichst wenig Bewegung im Stalle vor und während dem Melken beobachtet und während dem Melken der Kuhschwanz hoch gehalten.

Nach dem Ausmelken wurde sofort die Untersuchung der Milch, der Streu, des Kots resp. des Grases im bakteriologischen Laboratorium vorgenommen. Mittelst zweckentsprechender Verdünnungen der verschiedenen Untersuchungsobjekte wurden Plattenkulturen mit Gelatine und Agar mit und ohne Milch- und Traubenzucker angelegt; dieselben wurden bei Zimmertemperatur (18—22°) und Bruttemperatur (32—34° C) der Entwickelung überlassen. Ein Teil der frisch gemolkenen Milch wurde mit den nötigen Vorsichtsmaßregeln in kleinere Kolben abgefüllt zwecks Aufbewahrung bei Zimmertemperatur. Nach einigen Tagen war diese Milch gleichmäßig geronnen; ein Färbepräparat aus dieser koagulierten Milch lehrte, daß wirkliche Milchsäurebakterien vorhanden waren, obwohl es aus der frischen Milch nicht gelang, Milchsäurebakterien zu

48*

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

züchten. Es lag nun der Gedanke nahe, daß in der frischen Milch wohl Milchsäurebakterien vorhanden sind, aber nur in sehr bescheidenem Maßstabe, daß sie der Auffindung auf obenerwähnten Platten entgingen. Aus letztangeführtem Grunde nun wurde zu dem sogenannten Anreicherungsverfahren übergegangen, welches darin bestand, daß die erwähnten Verdünnungen von Milch, Kot, Streu, Gras, die zur Feststellung der Keimzahl dienten, in sterile Milchröhrchen geimpft wurden, letztere wurden alsdann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von 18—22° und bei Bruttemperatur von 32—34° C aufbewahrt. Es zeigte sich nun, daß die Milchröhrchen mit Streu-, Milch- und Grasverdünnung bei Zimmertemperatur ein gleichmäßiges Koagulum lieferten, das von Kotverdünnung hingegen durch Gärung in Stücke zerrissen war. Die höhere Bruttemperatur war im Vergleich mit der niederen Zimmertemperatur insofern ungünstig zur Ermittelung der Milchsäurebakterien, als die Gärung erzeugenden aëroben Mikroorganismen, die verschiedenen Stämme des Pseudomonas coli und des Bacterium aërogenes, die Oberhand gewannen, da ja das Optimum des Wachstums dieser Bakterien gerade bei genannter Temperatur liegt. Einzelne Milchsäurebakterien gedeihen übrigens auch bei 32—34° sehr gut, doch muß ich gemäß meiner diesbezüglich angestellten Versuche über die gegenseitige Beeinflussung der aëroben Gärungserreger der Milch zu den Säuerungsbakterien des Molkereigewerbes hier anführen, daß in steriler Milch, wenn auch die Milchsäurebakterien in überwiegend großer Anzahl eingeimpft waren, immer eine Kaseinausfällung mit starker Gasbildung zu konstatieren war.

Von dem gleichmäßigen Koagulum der Milchröhrchen von Milch-, Streu- und Grasverdünnung, ebenso von der stark gärenden Milchkultur der Kotverdünnung wurden Milchzuckergelatine- und Milchzuckeragarplatten angelegt. Die Kotplatten waren übersät mit großen, runden, weißen und weinblattartig, perlmutterartig glänzenden Oberflächenkolonieen, welche in Gemeinschaft mit den kleinen Tiefenkolonieen zu den beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungserregern der Milch gehörten. Ganz anders war das Bild der Milch-, Streu- und Grasplatten; die zahlreich vorhandenen kleinen Tiefenkolonieen ähnelten schon mikroskopisch den echten Milchsäureerregern, es wurden viele von diesen Kolonieen abgeimpft und sie erwiesen sich biologisch, morphologisch und physiologisch als Milchsäurefermente. Neben diesen Tiefenkolonieen waren auch einzelne Oberflächenkolonieen erschienen, die aber von pigmentbildenden Mikroorganismen herrührten, die auf den entsprechenden Platten, angelegt direkt aus den jeweiligen Verdünnungen, in ganz bedeutenden Mengen sich einfanden.

Aus diesen in größerer Anzahl angestellten Versuchen ist mithin mit Bestimmtheit zu folgern, daß die echten Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes in der Milch, in der Streu und im Grase in einem gewissen Zusammenhange stehen, während hingegen der Kuhkot zu derselben Zeit keine solchen Bakterien aufzuweisen hat.

Gleichzeitig mit der Feststellung der Provenienz der Milchsäurefermente wurde die Frage eruiert, wie verhält sich die Milch aus den verschiedenen Zeitabschnitten des Melkens bei längerem Stehen. Die Gesamtmilch wurde in 3 Teile gebrochen gemolken und so gut wie möglich mit größter Vorsicht und unter Anwendung aller Kautelen in drei völlig sterile Glaskolben verteilt. Von der ersten, zweiten und dritten Partie des Gemelkes wurden sofort Agar- und Gelatineplatten unter entsprechender Verdünnung 1:1000 angelegt. Teil I zeigte auf Agar wie Gelatine die meisten Oberflächen- wie Tiefenkolonieen aller möglichen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterienkategorieen, der mittlere Teil des Gemelkes ließ eine bedeutende Abnahme der Kolonieen gegen Teil I erkennen, ein ganz verändertes Bild kam den Platten der dritten Portion zu, indem nur einzelne Kolonieen, und zwar nur Tiefenkolonieen sich entwickelt hatten, die denjenigen von Milchsäurefermenten analog waren sowohl morphologisch wie biologisch. Nach bestimmten Zeitintervallen und bei einer immer konstant sich erhaltenden Temperatur von 16° wurden die einzelnen Proben näher betrachtet und gleichzeitig wie die zuvor erwähnten Platten mit denselben Milchquantitäten gegossen. Von den drei Portionen war die dritte immer diejenige, die zuerst der Gerinnung anheimgefallen war, und zwar war das Koagulum gleichmäßig glatt und fest. No. II gerann bedeutend später und No. I beanspruchte beinahe die $2^1/_2$-fache Zeit, wie No. III, auch diese zeigten beinahe dasselbe Koagulum, wie III, nur war die Konsistenz bedeutend weicher.

Agar- wie Gelatineplatten der zuerst geronnenen Probe III waren durchsetzt von einer Unmenge kleiner Tiefenkolonieen von Milchsäurefermenten, andere Species von Mikroorganismen hatten sich nicht eingefunden. Die während der Inkubationszeit, der Zeit zwischen Anfang des Versuches und der Ausfällung des Kaseins, in gleichen Intervallen angesetzten Plattenproben der Gemelkpartieen I und II ergaben die Tatsache, daß ein allmählicher Rückgang sämtlicher Bakterienarten eintrat, bis in dem Koagulum selbst beinahe ausschließlich nur Bakterien der Milchsäuregruppe aufzufinden waren, welche Gruppe resp. Anzahl der Individuen im Anfang immer mehr zunahm, um am Ende der Versuche ausschließlich das Feld zu behaupten. Portion No. III war anfänglich sehr arm an Milchsäurebakterien, andere Bakterien waren nicht anwesend, erstere nahmen im Vergleich mit den zur selben Zeit angesetzten Platten von I und II ungeheuer zu. Auf den ersten Blick schien es paradox, daß die letzte Portion des Gemelkes, welche doch eigentlich die haltbarste hätte sein müssen, zuerst der Zersetzung anheimfiel, doch ist es sofort zu erklären; die wenigen Milchsäurebakterien hatten keinen schweren Kampf um ihr Dasein, ihre Gegner, die anderen Milchbakterien, waren nicht vorhanden, so konnten sie sich rasch entwickeln und ihren physiologischen Einfluß geltend machen. Bei den Proben I und II mußten erst die Milchsäurefermente ihren Existenzkampf durchführen, die anderen Arten vernichten, welche Erscheinung auch durch einzelne Bilder der Agar- und Gelatineplatten in den verschiedenen Zersetzungsphasen vollkommen bestätigt wurde.

Denselben Vorgang wie in gewöhnlicher unsterilisierter Vollmilch habe ich in sterilisierter Milch erreicht, nur mit dem Unterschiede, daß nur zwei Bakterienarten, die aber physiologisch entgegengesetzt auf Milch einwirkten, nämlich Bacillus mesentericus ruber und ein Stamm einer Milchsäurebakterie mit der Tendenz der Streptokokkenbildung, gegenseitig sich beeinflussen konnten. In eine bestimmte Menge steriler Magermilch wurden anfänglich gleiche Mengen einer geronnenen Milchkultur der genannten Milchsäurebakterien und einer in Zersetzung begriffenen Milchkultur von Bacillus mesentericus ruber — das Kasein war ausgefällt und fing gerade an, sich zu peptonisieren — geimpft, und durch längeres Schütteln wurden die Bakterienmassen möglichst gleichmäßig verteilt, dann sofort Platten gegossen, nach verschiedenen Zwischenräumen wurden ebenfalls Platten angelegt. Bacillus mesentericus ruber, obwohl Sporen bildend, war zuletzt nicht mehr aufzufinden. In einem weiteren Versuche wurde der peptonisierende Bacillus in 20-fach größerer Menge als die Milchsäurebakterie angewandt,

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Resultat war dasselbe. Eine Milch, die völlig durch den Kartoffelbacillus aufgelöst war und eine durchsichtige, helle gelbliche Flüssigkeit darstellte, wurde ferner mit einer ganz geringen Menge einer Agarstrichkultur obenerwähnten Milchsäurebakteriums infiziert und wiederum gewannen schon nach kurzer Zeit bei einer Temperatur von 16° die Milchsäurefermente die Oberhand, zuletzt waren Bakterien von Bacillus mesentericus auch nicht mehr vorhanden. Die Flüssigkeit wurde immer trüber, nach und nach schied sich ein feines Gerinnsel aus. Mit diesen Versuchen nun wäre die Ansicht, die ich bezüglich der eingetretenen Erscheinung bei der ersten Portion des Gemelkes aussprach, völlig erwiesen.

Es wäre weiter die Frage zu eruieren, wie gelangen nun die Milchsäurefermente in den letzten Teil des Gemelkes? Nach verschiedenen Forschern ist die Milch im Innern des Kuheuters steril, sie treten der Theorie einer aufsteigenden Invasion durch den Zitzenkanal bei, da in den ersten Portionen des Gemelkes die Keimzahl eine große und zuletzt gleich Null ist, andere Forscher hingegen nehmen eine Infektion auf hämatogenem Wege an. Meine gefundenen Resultate in den verschiedenen Versuchen scheinen bei genauer Betrachtung und Ueberleguug einen weiteren Stützpunkt für die Annahme einer Infektion der Milch auf hämatogenem Wege zu bilden.

Eine weitere Untersuchung erstreckte sich auf die Widerstandsfähigkeit der Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes gegenüber einwirkender Wärme. Die hier in Betracht kommenden Stämme dieser Bakterien charakterisieren sich folgendermaßen: Morphologisch sind es Streptokokken, Kokken, Diplokokken, manchmal völlig isodiametrisch, manchmal mehr oder weniger elliptisch; kulturell erscheinen die Kolonieen immer und auf allen festen Nährmedien als kleine, feine, weiße Tiefenkolonieen, deren Umfang selbst nach mehreren Wochen nicht merklich zunimmt, ein Oberflächenwachstum konnte ich nie auf Platten konstatieren. Sterile Milch bringen sie bei hoher wie niederer Temperatur gleichmäßig glatt zum Gerinnen ohne irgend welche Gasbildung, das Koagulum selbst ist fest und zusammenhängend, das Kasein in möglichst feiner Verteilung ausgefallen. Sie bilden nur vegetative Formen, irgend eine Sporenbildung kommt ihnen nicht zu. Ich habe die Gelegenheit gehabt, während vieler Jahre mich mit sehr eingehenden Untersuchungen dieser Mikroorganismen zu beschäftigen und es ist mir in keiner Art und Weise gelungen, auch nur eine Andeutung von Sporenbildung zu finden. Ich bin nun der völligen Ueberzeugung, ein Dauerzustand kommt den Milchsäurebakterien nicht zu. Ein Forscher will in einer Bouillonkultur endogene Sporen beobachtet haben, diese sporulierenden Stäbchen sind weiter nichts gewesen als eine Infektion fraglicher Kultur von außen. Wie verhalten sich nun die vegetativen Formen bezüglich ihrer Resistenzfähigkeit gegenüber einwirkender Hitze?

Aus frisch geronnener Vollmilch wurde ein Stamm dieser Säurebildner neu isoliert, um ein möglichst virulentes Bakterium der Beobachtung unterziehen zu können. Die Weiterzüchtung geschah in Milchzuckerbouillon, von dieser Kultur wurden immer zwei sterile Milchröhrchen mittelst steriler Pipette mit derselben Bouillonmenge infiziert, die Milchröhrchen selbst enthielten immer dieselbe Quantität Milch. Die beiden Milchröhrchen wurden auf folgende Art erhitzt: Das eine wurde zur Aussaat verwandt, das andere wurde zur Kontrolle benutzt, d. h. um zu sehen, ob das Ausbleiben von Milchsäurebakterienkolonieen auf den Platten mit der Sterilität des zweiten Röhrchens kongruierte.

Zwei Wasserbäder waren zur Untersuchung nötig; das eine wurde

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in kochendem Zustande erhalten, während das andere mittelst eines Thermoregulators genau und konstant die in Betracht kommende Temperatur beibehielt. Das Wasserniveau in den Wasserbädern war so hoch, daß die Entfernung der Milchoberfläche ungefähr das Vierfache der Flüssigkeitssäule der Milch bis zur Wasseroberfläche betrug, damit beim Rühren mittelst eines sterilen Thermometers eventuell kleine Milchspritzer immer der richtigen Wärmewirkung ausgesetzt waren und somit ein einwandfreies Resultat erzielt werden konnte. In dem kochenden Bade wurden die Milchröhrchen bis zur gewünschten Temperatur unter fortwährendem Umrühren gebracht, dann sofort in das zweite Wasserbad, das die zur Prüfung bestimmte Temperatur gleichmäßig bewahrte, gebracht und erst von diesem Momente an wurde die Erhitzungsdauer gerechnet. Während der ganzen Erhitzungsdauer war das Reagenzglas mit einem Wattepfropfen lose verschlossen und fortwährend umgerührt. Nach Ablauf von verschiedenen Zeitintervallen wurde das Reagenzglas herausgenommen, sofort abgekühlt und jeweils mit einer bestimmten Menge der so erhitzten Milch Milchzuckeragarplatten gegossen; das zweite Röhrchen wurde zur weiteren Beobachtung wie die Agarplatten bei 37° C aufbewahrt. Die zuerst angewandte Temperatur lag zwischen 60 und 65°, eine Erhitzung von 5—10 Minuten bewirkte keine Abnahme der Kolonieen — zum Vergleich waren Platten mit der unerhitzten Milch und derselben Milchmenge vorhanden —; bei 20 Minuten trat schon eine Abnahme der Kolonieenzahl ein, welche Zahl bei 30, 40, 50 Minuten immer mehr abnahm, bei 60 Minuten und darüber blieben die Platten steril. Die zur Kontrolle im Brutschrank aufbewahrten Milchröhrchen koagulierten bis 50 Minuten einschließlich, bei 60 Minuten erfolgte keine Gerinnung mehr, welches Resultat mit den Platten völlig übereinstimmte. Eine Erhitzungsdauer von 1, 2, 3, 4 Minuten bei 70—75° zeigte eine allmähliche Abnahme der Keime und eine Gerinnung der entsprechenden Kontrollröhrchen, bei 5 Minuten waren keine Keime mehr vorhanden und keine Koagulation. 2 Minuten bei 80—85° genügten, um sämtliche Keime zu zerstören. Agarplatten und Milchröhrchen waren steril. Momentane Erhitzung, eine solche von $^1/_4$ und $^1/_2$ Minute bei 80—85° hatten mehr oder minder Einwirkung auf die Keimzahl. Von den geronnenen Röhrchen wurde mittelst Färbepräparat festgestellt, daß nur Milchsäurebakterien vorhanden waren. Dieser neu isolierte Stamm dieser Bakterienkategorie erlitt mithin bei 60—65° in 1 Stunde, bei 70—75° in 5 Minuten und bei 80—85° in 2 Minuten eine völlige Abtötung seiner vegetativen Formen. Während eines Jahres habe ich monatlich diese Milchsäurebakterien auf Agarstich abgeimpft und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt. Ist nun diese Bakterie infolge des Umimpfens auf dem künstlichen Nährboden in ihrer Resistenzfähigkeit gleich geblieben oder ist irgend eine Veränderung eingetreten. Die Versuche wurden analog denen vor einem Jahre angestellten gehandhabt und es zeigte sich deutlich eine geringere Widerstandsfähigkeit der vegetativen Formen gegenüber der Hitze, denn bei 60—65° waren nach 40 Minuten, bei 70—75° nach 3 Minuten und bei 80—85° nach einer halben Minute Erhitzungsdauer weder auf den Agarplatten noch in den Kontrollröhrchen Milchsäurebakterien zu finden.

Die Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes haben das Gemeinsame in biologischer Beziehung, daß die Kolonieen sämtlicher Stämme in Agar und in Gelatineplatten selbst unter Zusatz von Milch und Traubenzucker nur ganz kleine Tiefenkolonieen, und zwar nur solche bilden, die makroskopisch als feine weiße Pünktchen erscheinen. Mikroskopisch

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konnte ich bei den vielen untersuchten Stämmen nur zwei charakteristische Typen herausfinden, zwischen welchen aber so unendlich viele Uebergänge von einer Form in die andere auftraten, daß das Aussehen der Kolonie nicht als durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal zur Identifizierung der verschiedenen Stämme gelten konnte. Der eine Typus zeigte völlig glattrandige, runde bis ovale, feingekörnte, dünne, durchscheinende Kolonieen; seitliche Ausstülpungen bis zur Rosettenform mit ebenfalls feinkörniger Struktur zeichneten den zweiten Typus aus, ein Oberflächenwachstum kam auch nicht einem einzigen Stamm zu sowohl in Platten- wie Gelatine- und Agarstichkultur. Morphologisch bildeten sie ohne Regelmäßigkeit bald in festen, bald in flüssigen Nährmedien isodiametrische Kokken, Diplokokken, Streptokokken, die mehr oder minder ovale Formationen annahmen. Die Geschmacksprüfung der geronnenen Milch — sterilisierte Magermilch eignet sich am besten dazu — der einzelnen Stämme ist immer individuell und gibt keine Anhaltspunkte zur Unterscheidung. Die physiologische Energie der Milchsäureerreger bezüglich der Vergärung einzelner Zuckerarten und eines sechswertigen Alkohols gibt nach meinen Untersuchungen einen deutlichen Fingerzeig zu einer Gruppierung der einzelnen Abarten. Als Nährmedium kam Hefewasser mit jeweiligem Zusatze des betreffenden Zuckerart in derselben Art und Weise zur Verwendung, wie ich sie in dieser Zeitschrift. Bd. XVI. 1906. p. 715 bei den beweglichen und unbeweglichen Gärungserregern der Milch mitgeteilt habe. 14 Stämme, die ganz frisch aus verschiedenen Milchproben isoliert waren, habe ich auf ihr Verhalten gegenüber Milchzucker, Dextrose, Mannit, Galaktose und Maltose in mehreren Versuchen geprüft. Das Resultat ist in folgender Tabelle übersichtlich zusammengestellt:

| Bezeichnung | Milchzucker | Dextrose | Mannit | Galaktose | Maltose | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | + | — | — | — | — | |
| 6 | + | — | — | — | — | |
| 5 | + | — | — | — | — | Gruppe I |
| 11 | + | — | — | — | — | |
| 8 | + | — | — | — | — | |
| 14 | + | — | — | — | — | |
| 13 | + | + | — | — | — | |
| 4 | + | + | — | — | — | Gruppe II |
| 13 | + | + | — | — | — | |
| 2 | + | + | — | — | — | |
| 12 | + | + | + | — | — | |
| 10 | + | + | + | — | — | Gruppe III |
| 7 | + | + | + | — | — | |
| 9 | + | + | + | — | — | |

Sämtliche 14 Stämme setzen gleichmäßig Milchzucker um, eine Gruppierung in drei Abteilungen ist nach der Uebersicht genau und präzise vorhanden. Gruppe I ist indifferent gegenüber den anderen Nährmedien, Gruppe II säuert noch Dextrose, sonst wie I, Dextrose-Mannitvergärung kommt der Gruppe III zu. Es wäre nun sehr interessant und wichtig, wenn andere bakteriologische Forscher auch die Stämme der Milchsäurebakterien nach dieser physiologischen Richtung hin untersuchen würden, denn die bis jetzt gebräuchlichen kulturellen und morphologischen Unterscheidungen sind wertlos.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die Ursache der braunroten Färbung von Hart- und Weichkäsen.

## Beschreibung des Erregers eines solchen Käsefehlers, Bacterium casei fusci.

Von Dr. **Th. Gruber**, Hamburg.

Der Ursprung dieses farbstoffbildenden Bakteriums ist auf einen Käsefehler zurückzuführen, der in einer norddeutschen Käserei auftrat und Weichkäse in der Nähe der Rinde gelbrot bis rosarot färbte. Bei Hartkäse war die Tinktion so stark, daß derselbe durch und durch mahagonibraun war, am stärksten in den Partieen unter der Rinde, von wo aus der Farbstoff nach und nach gegen das Zentrum hin diffundierte.

Die Ursache dieser störenden Färbung sollte nun bakteriologisch ihre Feststellung finden; hierbei gewann auch wieder meine schon an anderer Stelle ausgesprochene Ansicht ihre volle Berechtigung. Bei der bakteriologischen Analyse muß ein dem natürlichen Nährsubstrate möglichst angepaßtes Nährmedium und möglichst verschiedenartige Nährböden zur Isolierung der festzustellenden Bakterien in Anwendung gebracht werden.

In diesem Falle konnte voraussichtlich die Käsegelatine den Zweck erfüllen, und in der Tat war dies das einzige Nährmedium, auf dem Kolonieen vorhanden waren, welche sich später als diejenigen von Bacterium casei fusci erwiesen. Diese Gelatineplatten gewährten im großen und ganzen ein ganz anderes Bild, wie diejenigen von gewöhnlicher Gelatine und Agar.

Isoliert war nun diese Bakterie, geprüft ihre Eigenschaften Milch gegenüber, ist nun auch dies Bakterium der wirkliche Erreger der mahagonibraunen Färbung? Käsereiversuche, bei denen der zu verkäsenden Milch Reinkulturen dieser Bakterie in großem Ueberschusse zugesetzt waren, ergaben ein negatives Resultat. Die Versuchsausführung wurde nun so durchgeführt, daß mit geimpften, etwas älteren Milchkulturen die Borde, auf denen die ohne Zusatz der Bakterie, also gewöhnlich hergestellten Käse lagerten, völlig getränkt wurden.

Nach einiger Zeit trat unter der Rinde der Weichkäse eine gelbbraunrot gefärbte Zone auf. Aehnlich lag der Fall auch in der betreffenden Meierei, die eine Zeit lang unter diesem Fehler zu leiden hatte. Käse von derselben Milch lagen zur Reifung auf zwei verschiedenen Borden, die durch einen großen Zwischenraum voneinander getrennt waren; nur bei Käsen, die auf der gewissen Unterlage lagen, war regelmäßig diese Färbung eingetreten. Die bakteriologische Analyse bestätigte auch die Anwesenheit dieses Farbstofferzeugers, und zwar beinahe als Reinkultur in den zur Untersuchung eingesandten Fragmenten der in Frage stehenden Holzunterlagen. Die Beseitigung dieses Fehlers erreichte die betreffende Meierei dadurch, daß sie die infizierten Borde mit Kalkmilch gründlich reinigte und die gereinigten Borde dem Sonnenlicht aussetzte.

Gelatineplatten, 15 Proz., 16—20°. Das Wachstum in gewöhnlicher Gelatine bleibt immer ein minimales. Nach einer Woche bedecken höchstens $1/3$ mm im Durchmesser fassende, völlig runde, halbkugelig gewölbte, kuppenförmige, kompakte, grauweiße, schwach glänzende Kolonieen die Oberfläche des Nährbodens; in der Tiefe desselben befinden sich kleine, runde Scheiben, die bei 50facher Vergrößerung völlig

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rund, glattrandig, schwarz konturiert und strukturlos erscheinen. In späterer Zeit sinken die Oberflächenkolonieen in die Gelatine ein, um die meisten bildet sich ein schmaler Verflüssigungsring. Eine Zunahme an Größe erfolgt selbst nach 4 Wochen nicht.

Die Bakterien einer 6-tägigen Kultur sind im hängenden Tropfen völlig unbeweglich; im gefärbten Zustande sind es Einzelstäbchen, über 1,25 $\mu$ lang, 0,6 $\mu$ breit, mit ovalen Seiten; manche erreichen 3,5 $\mu$ Länge, besitzen dann parallele Seiten und abgerundete Enden, sehr häufig kommen Diplostäbchen mit zugespitzten Enden vor.

Käsegelatineplatten, 15 Proz. bei 16—20°. Auf diesem Nährboden besitzen die runden, glattrandigen, halbkugeligen, grauweißen, matten, nur ganz mit dem Platindraht herausnehmbaren Oberflächenkolonieen nach 3—4 Tagen einen Durchmesser von $^1/_2$ mm. Die Tiefenkolonieen verhalten sich ähnlich, wie diejenigen in gewöhnlicher Nährgelatine, nur besitzen sie grobkörnige Struktur. Bald kerbt sich der Rand der einzelnen Oberflächenkolonieen, und es entstehen Ausstülpungen. Nach 14 Tagen erscheinen die Kolonieen rosettenförmig, am Rande lassen sich konzentrische Schichtungen erkennen. Die Kolonieen sind sehr kompakt, matt, cremefarbig, sehen im Durchschnitt wie Blutkörperchen aus und besitzen einen Durchmesser bis 3 mm, um die einzelnen Kolonieen ist die Gelatine eingesunken. Die Tiefenkolonieen sind mikroskopisch ebenfalls rosetten- bis gänseblümchenartig. Die cremeartige Färbung geht nach 3 Wochen in die bräunlichgelbe über, auf den Kolonieen finden sich dann an einzelnen Stellen mehlartig bestäubte, weiße, warzig aussehende Gebilde meistens am Rande ein, welche nach 6 Wochen immer häufiger werden.

Im hängenden Tropfen sind die Bakterien einer 5 Tage alten Kultur bei 16—20° auch hier völlig ohne Bewegung, die Abmessungen bewegen sich in denselben Grenzen, wie bei gewöhnlicher Gelatine; ältere Kulturen zeigen granuliertes Protoplasma, Sporen sind nicht nachweisbar, hingegen treten ab und zu Degenerationsformationen auf.

Agarplatten bei 16—20°. Die Konsistenz der Oberflächenkolonieen ist hier im Gegensatz zu den Gelatineplatten breiiger Natur; der Durchmesser der Oberflächenkolonieen beträgt hier nach 14 Tagen 5 mm, die Kolonieen selbst sind rundlich, schwach glänzend, weißlich, in der Mitte erhaben, gegen den Rand hin sich abflachend; ab und zu bestehen sie deutlich aus zwei konzentrischen Schichten, einem breiten Kern und einem schmalen, glatten Rand. Die Tiefenkolonieen sind mikroskopisch rund, glattrandig und grobgekörnt.

In gefärbtem Zustande nähern sich die Kolonieen in diesem Nährsubstrat mehr oder minder einem Coccus, die Einzelindividuen wie die Diplostäbchen sind mehr oder minder oval, manchmal isodiametrisch und polyedrisch, ab und zu entstehen Merismopedien. Beweglichkeit ist auch hier nicht vorhanden.

Agartupfkolonieen nach 14 Tagen bei 16—20° C. 5 mm große, unregelmäßige, gelappte und gebuchtete, schwach glänzende, cremefarbige, flache, dicke, vaselinartig weiche Kolonieen sind an den Tupfstellen entstanden. Das Wachstum der Gelatinetupfkolonieen ist im großen und ganzen dasselbe, nur sind die Kolonieen sehr kompakt und die Gelatine ist um die einzelnen Kolonieen erweicht.

Gelatinestich, 15 Proz., 16—20°. Erst nach 20 Tagen ist ein deutliches Wachstum vorhanden, eine 5 mm große, runde, fein radiär, gleichmäßig gestreifte, matte, wachsartig aussehende, weißliche

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auflagerung umgiebt die Stichöffnung, im Stichkanal selbst sistiert das Wachstum, Peptonisierung tritt hier nicht ein.

Gelatinestrich, 15 Proz., 16—20° C. Ein schmaler, deutlich erhabener, weißer, schwach glänzender, quergeringelter, sehr kompakter Belagstreifen entsteht nach einer Woche längs des Impfstriches, der nach 3 weiteren stärker wird.

Agarstrich. Bei 34° wird die anfänglich völlig weiße Farbe nach 7 Tagen cremefarbig, die Konsistenz der Auflagerung ist trocken, bei 16—20° bleibt die weiße Farbe erhalten, die Konsistenz ist hier wässerig-breiig. Die Auflagerung ist schmal, erhaben und schwach glänzend, bei 34° bedeutend üppiger wie bei 16°.

Agarstrich mit 10 Proz. Milch. Innerhalb 24 Stunden bei 16 und 34° ist hier das Wachstum bedeutend intensiver, wie auf gewöhnlichem Agar, ein breiter, weißlicher, schwach glänzender, etwas breiiger Impfstreifen bedeckt den Nährboden, unter welchem nach 3 Wochen eine reichliche Auflösung des suspendierten Kaseins erfolgt war, mit verdünnter Salzsäure behandelt, tritt wieder Ausfällung des Kaseins ein.

Bouillon und Heuinfus. Bei hoher wie niedriger Temperatur ist in diesen flüssigen Nährmedien nur ein ganz minimales Wachstum zu bemerken, schwache Trübung beider Medien. In zwei anderen Nährflüssigkeiten (1 Proz. Kochsalz und Pepton oder 1 Proz. Kochsalz, Pepton und Kaliumnitrat in wässeriger Lösung) ist nach 8-tägiger Bebrütung bei 34° stärkere Trübung und reichlichere Sedimentbildung eingetreten als bei 16—20°, Indol war in ersterer Lösung und Nitrit in letzterer nicht nachweisbar.

Kartoffelkultur. 5 Tage bei 34° verursachen breite, erhabene, ziemlich dicke, matte, feinwarzige, trockene, schmutzig-cremefarbige Impfstreifen, die bei 16—20° nach derselben Zeit nur schmal und dünn sind. Im hängenden Tropfen ist nach 24 Stunden bei 16 und 34° keine Bewegung vorhanden.

Milchkulturen. a) Homogenisierte Milch bei 34°. Die am Rande des Reagenzglases befindlichen Partieen werden nach 2 Tagen rosenrot, welche Färbung dann zunimmt, um nach und nach ins Cremefarbige und Braunrote überzugehen.

b) Vollmilch nach 5 Tagen bei 34°. Die Fettschichten am Glasrande sind cremefarbig und später braunrot.

c) Innerhalb 5 Tagen tritt bei 34° äußerlich bei Magermilch keine Veränderung auf, nur ist die Reaktion, wie bei den beiden vorhergehenden, stark alkalisch.

Eine 3-wöchige Aufbewahrung der Magermilch bei 16—20° bewirkt eine völlige Auflösung des Kaseins; eine Ausfällung findet nicht statt. Die obersten Schichten sind dann rötlich-cremefarbig.

d) Rahm nimmt nach 4 Wochen bei 16—20° in den obersten Schichten eine Cremefarbe an.

e) Bei der Zusammenimpfung kleiner Mengen einer Milchsäurebakterie und dieses Bacterium casei fusci bei einer Temperatur von 18—20° in einem 400 ccm fassenden Erlenmeyer-Kolben gerinnt die Magermilch nach 5 Tagen und es befindet sich ein 3—4 mm breiter, violetter, mit der Peripherie des Kolbens konzentrischer Ring auf der Oberfläche, ferner noch mehrere auf derselben zerstreute Flecke, welche ebenfalls wie der Ring mit der Zeit an Stärke zunehmen.

f) Bei der Symbiose mit Bacillus mesentericus vulgatus besitzen die Randpartieen in Milch cremefarbige bis braunrote Färbung.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auffallen muß die nach der Beschreibung eigentümliche Tatsache, daß in den Platten gewöhnlicher Gelatine und gewöhnlichen Agars, letzterer bei 16—20° und 32—34°, behufs Trennung der im Käse enthaltenen trotz längeren Aufbewahrens, etwa 14 Tage bis 3 Wochen, auch nicht eine Kolonie aufzufinden war, die sich als das auf Käsegelatine in so großer Anzahl aufgefundene Bacterium casei fusci erkennen ließ, während doch genanntes Bakterium in Reinkultur in Platten gewöhnlicher Nährgelatine, wenn auch in kleineren Dimensionen, auf Agar hingegen in Kolonieen mit $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser sich entfaltete. Ich nehme nun an: Die verschiedenen Arten der in fraglichen Käsen anwesenden Mikroorganismen müssen bei ihrem Wachstum auf den beiden gewöhnlichen Nährmedien Gelatine und Agar wohl Stoffwechselprodukte ausgeschieden haben, die einer Entwickelung des Bact. casei fusci hemmend entgegentraten; Käsegelatine hingegen war entweder für die auf den beiden vorhergehenden entwickelten Bakterien schon an und für sich ein nachteiliges Nährmedium oder das von diesem Nährboden schon von vornherein begünstigte Bact. casei fusci sonderte Umsetzungsprodukte aus, die ihrerseits wieder dem Wachstum der anderen Bakterienkategorieen nachteilig entgegenwirken mußten.

---

*Nachdruck verboten.*

# Die Ausbreitung der Stachelbeerpest, Sphaerotheca mors uvae (Schweinitz) Berkely[1], in Europa im Jahre 1906.

Von **Wilhelm Herter,**

Botan. Assistenten am Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg.

Mit 2 Figuren.

Im Sommer des Jahres 1900 wurde zum ersten Male auf europäischem Boden eine Krankheit der Stachelbeeren gemeldet, die seit Anfang vorigen Jahrhunderts in den Vereinigten Staaten bekannt und gefürchtet, bisher aber auf Nordamerika beschränkt geblieben war.

Der Urheber der Krankheit, Sphaerotheca mors uvae (Schwn.) Berk., gehört mit einer Reihe von anderen gefährlichen Parasiten zur Familie der Erysibaceae. Allgemein bekannt sind verschiedene Arten der Gattung Erysibe, die auf vielen Hunderten von Pflanzenarten beobachtet worden sind und gemeinhin Meltau[2]) (auch Mehl-, Milb-, Mild- oder Honigtau) genannt werden. Besonders die Futterleguminosen haben oft unter dem Schädling zu leiden. In aller Erinnerung ist die Erysibacee Uncinula necatrix (Schwn.) Burr. (= Oidium Tuckeri Berk.), der Rebenmeltau, der im Jahre 1845 aus Amerika nach England und von dort aus nach dem übrigen Europa gelangte und besonders in den Weinbergen Südfrankreichs unermeßlichen Schaden stiftete. Auf Hopfen und Obstbäumen schließlich tritt Sphaerotheca Humuli (D.C.) Schröt. als gefürchteter Parasit auf. Zu diesen Feinden unserer Kulturgewächse kommen zwei auf Ribes-Arten schmarotzende Erysibaceen: Microsphaera Grossulariae (Wallr.) Lév. und Sphaerotheca mors uvae (Schwn.) Berk. Die erstere, in Europa schlechthin Stachelbeermeltau genannt, ist seit über 100 Jahren in der nördlichen gemäßigten Zone bekannt. Sie befällt Blätter und Zweige von Ribes Grossularia L., seltener von R. nigrum L. und anderen Ribes-

1) Nicht Berk. et Curt.

2) Ahd. mili-tou, mhd. miltou, cf. engl. mildew. Etymologie dunkel, doch wohl kaum mit ahd. mëlo, mhd. mël (Mehl, engl. meal) verwandt, und daher wohl richtiger „Meltau" zu schreiben.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Sambucus-Arten. Sie verursacht frühzeitiges Abfallen der Blätter und Beeren, was bisweilen Vertrocknen der Sträucher zur Folge hat. Bespritzen mit Kupfervitriolkalkbrühe, sowie vor allem gute Pflege (Feuchthalten) der Sträucher scheinen wirksame Bekämpfungsmittel der Krankheit zu sein. Weit gefährlicher ist Sphaerotheca mors uvae, der „gooseberry-mildew" der Amerikaner. Dieser Schmarotzer beginnt im Frühjahr ganz ähnlich wie Microsphaera die Blätter und Triebspitzen mit einem weißen, spinngewebeartigen Ueberzuge (Konidienbildung) zu bedecken, greift dann aber sehr bald die jungen Beeren an und bildet auf diesen wie auf den Triebspitzen ein zunächst weißliches,

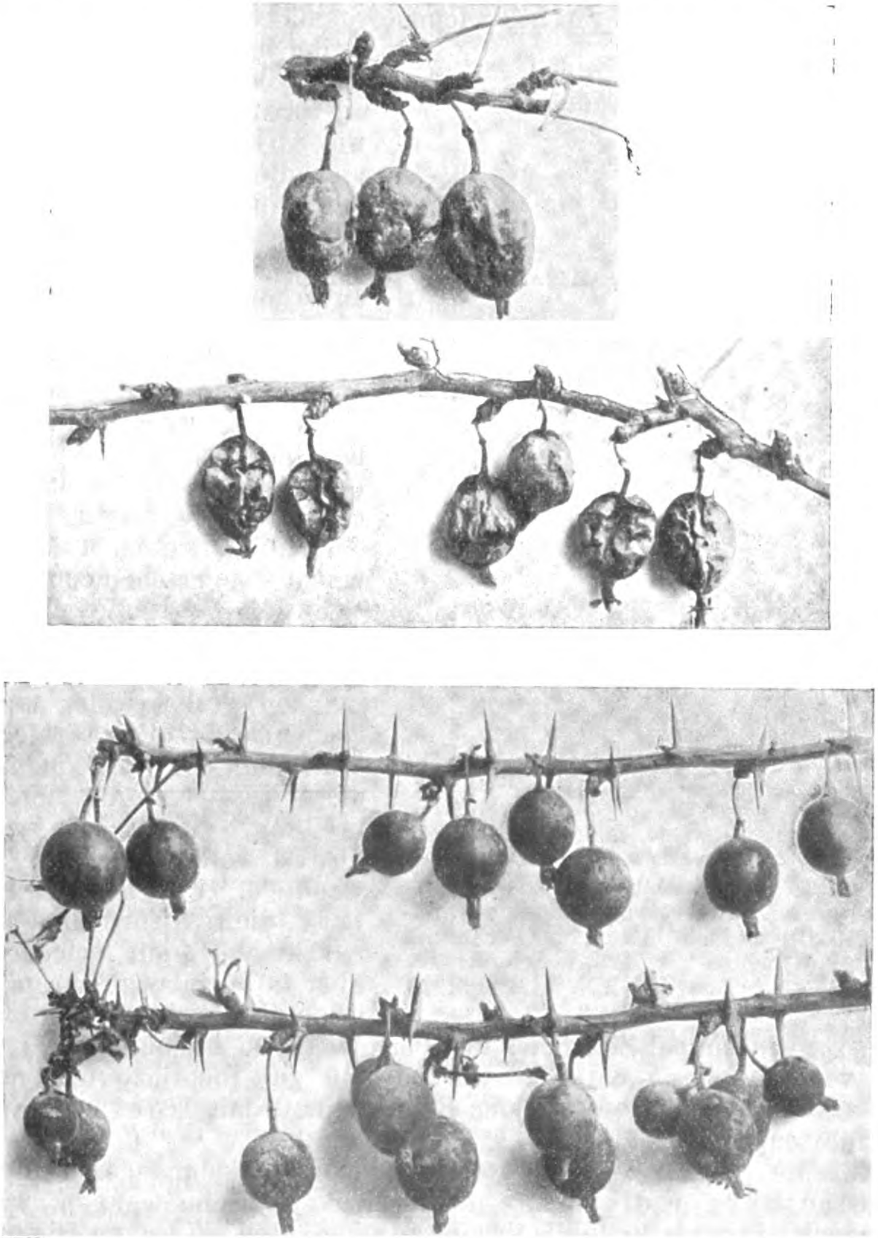


Fig. 1. Die Stachelbeerpest (Sphaerotheca mors uvae [Schwn.] Berk.); oben auf rotfrüchtigen Stachelbeeren helle, unten auf grünfrüchtigen dunkle Polster bildend. Material aus Schulitz Kr. Bromberg. 11. August 1906.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

später grau oder braun werdendes, ziemlich dickes, filziges Geflecht (Perithecienbildung), das den Früchten ein fleckiges, unappetitliches Aussehen gibt. Die so befallenen Stachelbeeren werden untauglich zum Gebrauch — nur im unreifen Zustande läßt sich das Pilzgeflecht von den Früchten abschaben — und trocknen schließlich, wenn man sie am Stamme ausreifen läßt, völlig ein. Die jungen Triebspitzen verkümmern unter dem Einfluß des Parasiten, und oft soll vollständiges Eingehen der Sträucher die Folge starken Befalls gewesen sein. Der Parasit bevorzugt Stachelbeeren (Ribes Grossularia L.), tritt jedoch nicht selten auch auf Johannisbeeren (R. rubrum L.) und Gicht- oder Ahlbeeren (R. nigrum L.) in derselben verheerenden Weise auf. Im Gegensatze zu Microsphaera scheint Sphaerotheca feuchte Standorte zu bevorzugen, worauf weiter unten näher eingegangen wird. Während ferner Microsphaera Grossulariae wie Sphaerotheca Humuli und die Erysibe-Arten auf den ihnen zusagenden Wirtspflanzen bald hier bald dort, anscheinend ganz planlos, oder auf schon durch andere Einflüsse geschwächten Pflanzen auftreten, in einem Jahre größeren, im anderen geringeren Schaden anrichten, eigentlich aber stets vorhanden sind, zeigt Sphaerotheca mors uvae das höchst charakteristische Verhalten eines Adventivparasiten. Plötzlich an einem Orte erscheinend, erobert sich der Schädling planmäßig von diesem Punkte aus das neue Gebiet, von Jahr zu Jahr schneller und verheerender um sich greifend und alles vernichtend, was ihm in den Weg kommt. In dieser typischen Art der Ausbreitung gleicht Sphaerotheca vollkommen ihrer Verwandten, Uncinula necatrix, die sich vor einem halben Jahrhundert mit solcher Eile über die Weinberge Europas hermachte, daß sie — man möchte sagen — nicht einmal Zeit fand, die Perithecien zu bilden, die dann erst 1892 von Couderc entdeckt wurden und zur Identifizierung des als Oidium Tuckeri beschriebenen Rebenmeltaus mit Uncinula necatrix führten.

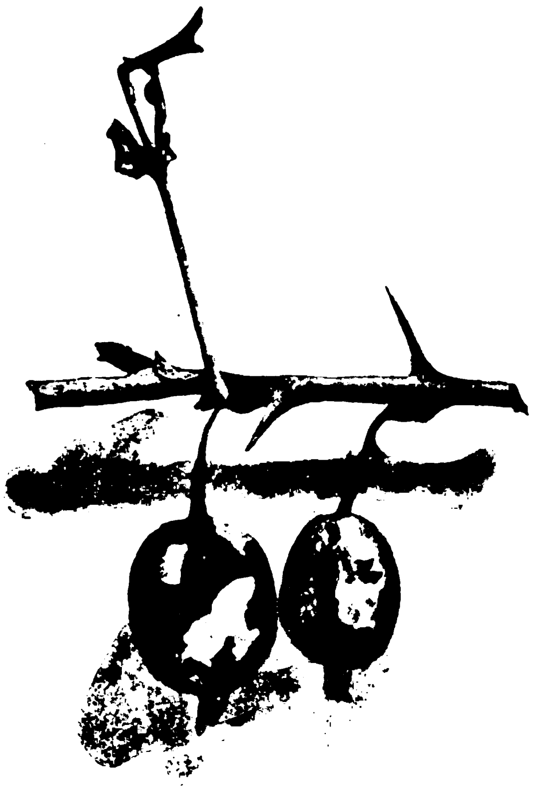


Fig. 2. Die Stachelbeerpest (Sphaerotheca mors uvae [Schwn.] Berck.) auf rotfrüchtigen Beeren helle Flecke mit Perithecien (als Punkte sichtbar) bildend. Schulitz Kr. Bromberg. N. e. Aquarell n. d. N. 11. Aug. 1906.

Auf die Morphologie, Anatomie und Entwickelungsgeschichte von Sphaerotheca mors uvae kann hier nicht eingegangen werden. Ich gedenke an anderer Stelle darüber zu berichten. Zu der vorliegenden kleinen Arbeit habe ich außer den (am Schlusse zusammengestellten) Angaben der Literatur eine Reihe von mündlichen und schriftlichen Mitteilungen der verschiedensten Art benutzt. In besonders liebenswürdiger

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weise unterstützten mich die Herren Fachgenossen im Auslande. Es sei mir gestattet, denselben auch an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen. Ferner bin ich allen Besitzern von Stachelbeerobst und sonstigen Interessenten, die mir Nachrichten zugehen zu lassen die Freundlichkeit hatten, zu Danke verpflichtet. In Deutschland erhielt ich die meisten Mitteilungen auf einige Artikel in Tageszeitungen hin, ferner durch persönliche Nachforschungen und Anfragen bei Bekannten und in Orten, in denen ihrer Lage nach (cf. weiter unten) eine Infektion zu erwarten stand. Jeder Anfrage fügte ich ein Formular bei, in welches ich über folgende Punkte eventuell angestellte Beobachtungen einzutragen bat: 1) Ort, 2) Name des Besitzers, 3) Jahr des ersten Auftretens, 4) Bodenbeschaffenheit (ob feucht etc.), 5) Größe des Schadens, Art der Sträucher, welche Sorten? auch Hochstämme? auch Johannisbeeren? wann und woher bezogen? Verbreitung in der Umgegend. Mutmaßliche Herkunft des Schädlings.

So wurde mir das Auftreten der Stachelbeerpest von folgenden Ortschaften bekannt:

Irland (cf. Literatur No. 29—37; 39).

| | |
|---|---|
| **1900** | Co. Antrim: Ballymena, Gärten von Whitehall |
| 00 | — Killagan |
| 01 | — Broghahan |
| 02 | — Antrim |
| 03 | — Lissanoure |
| **1900** | Co. Down: Newtownards |

| | |
|---|---|
| **1902** | Co. Derry: Abbeylix |
| 02 | — Castledawson |
| 02 | — Aghadowey |
| **1902** | Queen's Co.: Abbeylix |
| **1902** | Co. Dublin: Glasnevin |
| 03 | — Foxrock |
| **1903** | Co. Westmeath: Athlone |
| **1906** | Co. Kilkenny auf Ribes rubrum L. (cf. Lit. No. 39) |

Wie mir Herr Prof. Salmon (23. Oktober 1906) mitteilt, ist die Krankheit in diesem Jahre in Hunderten von Gärten in 14 Counties Ost-Irlands verbreitet. An den ersten Lokalitäten sind aus Amerika importierte Sträucher vorhanden gewesen.

Rußland (cf. Literatur[1]) No. 4—5, 15—20).

| | |
|---|---|
| **1900** | Gouv. Moskau: Michailowsk, Kr. Podolsk, Gut des Grafen Scheremetjeff (Mosolow) |
| 03 | — Sserpuchow (P. S. Ljapin) |
| 03 | — Kolomna (J. Kuprijanow) an Ribes nigrum L. |
| 04 | — (Golowanow) |
| 04 | — Krjukowo (Markow) |
| 04 | — Kljusow (Sawjälow) |
| **1900** | Gouv. Kursk: Kreis Kursk (Bondarzew) |
| 00 | — Kreis Dmitrow (idem) |
| 03 | — Kreis Konotop (Tiniza) |
| **1901** | Gouv. Livland: Riga und Umgegend (Prof. Buchholz u. eigene Informationen) |
| **1902** | Gouv. Estland: Port Kunda |
| 05 | — Weißenstein (Dr. Behrsing, in litteris 10. Aug. 1906) |
| **1902** | Gouv. Lomza: Lomza |
| **1902** | Gouv. Siedlce: Siedlce |
| **1902** | Gouv. Wladimir: Gawrilowka (Priester Bobrow) |
| 03 | — Murom (Sposobin) |
| **1902** | Gouv. Kaluga: Kaluga |
| 02 | — Kreis Schisdra (Feigel) |
| 03 | — Pulcherow (Dobrowolsky) |

| | |
|---|---|
| 1904 | Gouv. Kaluga: (Merenkow) |
| 04 | — Tarus (Pospelow) |
| **1902** | Gouv. Ssimbirsk: Ssimbirsk (Prof. v. Jaczewsky) |
| **1902** | Gouv. Kasan: (Jelenew) |
| **1902** | Gouv. Poltawa: Kreis Lochwiza |
| 02 | — Poltawa |
| **1903** | Gouv. St. Petersburg: St. Petersburg (Petrow) |
| 04 | — Zarskoje-Sselo (Demjanowitsch) |
| 04 | — Luga (Karpinsky) |
| **1903** | Gouv. Nowgorod: Nowgorod (E. Hoff) |
| **1903** | Gouv. Pskow: Pskow (Prof. Buchholz) |
| **1903** | Gouv. Twer: auf Ribes rubrum L. |
| **1903** | Gouv. Kurland: Kreis Illuat |
| **1903** | Gouv. Kowno: Kowno (Ingenieur Schwede) |
| 04 | — (Prof. Buchholz, Domoradsky) |
| 04 | — Uzjiani (Gineitis) |
| **1903** | Gouv. Wilna: Wilna (A. J. Wasiljew) |
| **1903** | Gouv. Minsk: Pinsk (E. Hoff) |
| **1903** | Gouv. Wolynsk: Dubno (F. Krüschek) |

1) Die zum Teil in russischer Sprache erschienene Literatur wurde mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. Monteverde, St. Petersburg, zugänglich.

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| 1903 | Gouv. Kijew: Kreis Uman |
| 04 | — Bjelvi-Zerkwi (Tscheglow) |
| 04 | — Smela, Kr. Tscherkassy (Trschebinsky) |
| 1903 | Gouv. Woronesch: (W. A. Reszow) |
| 1903 | Gouv. Tambow: Snitko im Dorfe Potapjewo |
| 1903 | Gouv. Stawropol: (F. J. Makarow) |
| 1903 | Gouv. Tomsk (Sibirien): Tomsk (Iwanitzky) auf Ribes Grossularia, Ribes nigrum L. mitgrünen Früchten und Ribes rubrum L [v. Jaczewsky[1])] |
| 1904 | Gouv. Plozk: Kreis Przasnysz, Landgut Dzierzgówek |
| 05 | — Kreis Ciechanów: Lysakowo, Grzybowo, Paluki, Zochi |
| 1904 | Gouv. Witebsk: Dünaburg (Trschebinsky) |
| 1904 | Gouv. Tschernigow: Kr. Ostersk (Schpinar) |
| 1904 | Gouv. Podolien. |

In den Jahren 1905 und 1906 hat die Stachelbeerpest weitere Fortschritte gemacht und überall großen Schaden angerichtet, wie mir gelegentlich einer Exkursion in den baltischen Provinzen bis St. Petersburg von den verschiedensten Seiten versichert wurde. Herkunft anscheinend ebenfalls direkt aus Amerika, von wo nach v. Jaczewsky in den letzten Jahren viel Stachelbeersträucher importiert worden sind [1]).

### Schweden (cf. Literatur 6—14).

| | |
|---|---|
| 1901 | Blekinge: Sandviks gård bei Karlshamn (A. Jönsson) |
| 1903 | Malmöhus: Falsterbo |
| 06 | — Bjerred bei Lund |

Herr Prof. Eriksson in Stockholm zeigte mir Sphaerotheca-kranke Stachelbeeren aus den verschiedensten Gegenden des Reiches. Danach ist die Krankheit, die 1905 erst von zwei Stellen bekannt war, in diesem Jahre an mehreren Hunderten von Ortschaften aufgefunden worden. Der nördlichste Punkt lag in Medelpad etwa 62° n. Br. Ich sah auch Meltau auf Rubus vitis idaea L., der von Eriksson als Sphaerotheca mors uvae angesprochen wird. Johannisbeeren scheinen noch nicht befallen worden zu sein.

### Dänemark (cf. Literatur No. 24—28).

Da an den beiden ersten in Schweden aufgefundenen Sphaerotheca-Standorten die Sträucher aus der Baumschule von Mathiesen, Korsør in Sjaelland bezogen worden waren, so ist hier die Beerenpest vielleicht schon im Jahre 1900 oder 1901 vorhanden gewesen, bemerkt wurde sie hier wohl erst 1902. Weitere Fundorte:

| | |
|---|---|
| 1902 | Sjaelland (Seeland): Tikøb (Amt Frederiksborg) |
| 02 | — Stavnholt (Furesø) |
| 03 | — Bokkedal |
| 03 | — Jonstorp |
| 03 | — Köge |
| 04—06 | — 12 Gärten im N. E., besonders in der Gegend von Fredensborg, 4 in anderen Teilen Sjaellands (Prof. Rostrup 3. Okt. 1906 briefl.) |
| 1903 | Fyn (Fünen): Ragense |
| 1903 | Jylland (Jütland): Kolding |
| 03 | — Veile |
| 06 | — Bjert (Amt Veile) |
| 06 | — Aarhus |
| 06 | — Holstebro |
| 1906 | Lolland (Langeland) |
| 1906 | Falster |

Nach Eriksson ist die Krankheit in Korsør direkt aus Amerika eingeschleppt worden. Sie wurde im Jahre 1904 an 10 verschiedenen Stellen bemerkt; 1906 kennt sie Herr Prof. Rostrup aus 40 Gärten an Ribes Grossularia L. und aus 3 Gärten an Ribes rubrum L. (briefl. Mitt.)

### Deutschland (cf. Literatur No. 1—2).

| | |
|---|---|
| 1903 | Prov. Pommern: Barth an Ribes Grossularia L. und R. rubrum L. (P. Gransee-Binz briefl.) |
| 1904 | Prov. Ostpreußen: Ragnit und Umgegend (H. Friedrich-Ragnit briefl.) |
| 1905 | Prov. Ostpreußen: Tilsit (idem) |
| 05 | — Schwarzort (Kurische Nehrung) |

1) Briefl. Mitteilung vom 15. Nov. 1906 a. St.

Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| | in mehreren Gärten (Frau M. Stellmacher briefl.) |
| 1905 | Prov. Ostpreußen: Heydekrug (Gemeindevorstand Treichler briefl.) |
| 05 | — Lyck und Umgegend (Lehrer Czechaj briefl.) |
| 06 | — Allenstein (Magistrat Thünn briefl.) |
| 06 | — Lötzen |
| 06 | — Ponarth bei Königsberg |
| 06 | — Klein-Kossuchen bei Kruglinnen, NW. Lyck |
| **1904** | Prov. Westpreußen: Neuhof bei Ostrometzko, Gut der Gräfin Alvensleben (Oberinspekt. Tielemann briefl.) |
| 05 | — Marienburg (B. Bauer mündl.) |
| 05 | — Groß-Lesewitz bei Marienburg, Gutsbes. Zimmermann (N. N. mündl.) |
| 1905 | — Weichselmünde (Gemeindevorst. Jundyck briefl.) |
| 06 | — Rachelshof bei Tiefenau, Kreis Marienwerder (Magistrat zu M. briefl.) |
| 06 | — Danzig (B. Bauer mündl.) |
| 06 | — Westerplatte bei Danzig (idem) |
| 06 | — Groß-Steinort (Frisches Haff) in Gärten (aufgefunden 3. Aug. 1906) |
| 06 | — Hausfelde, Kreis Schlochau |
| 06 | — Oliva bei Danzig |
| 06 | — Steinau bei Thorn |
| 06 | — Gerlachsdorf bei Braunsberg |
| **1904** | Prov. Posen: Labischin u. Umgegend (B. Schülke, Krenke, Żakowski; briefl.) |
| 05 | — Schulitz a. d. Weichsel (Schinn, Schmidt, Liebig, Mann; mündl. u. briefl.) |
| 05 | — Niecponie bei Fordon a. d. Weichsel, Gutsbesitzer E. Steller (besichtigt 20. Juni u. 15. Juli 1906) |
| 05 | — Bromberg, Prof. Koch (Dr. Peppler mündl.) |
| 1905 | Prov. Posen: Bromberg, Thornerstraße (Pludkowski mündl.) |
| 05 | — Klein-Bartelsee bei Bromberg, Holzplatz, O. Peter (B. Bauer mündl.) |
| 06 | — Groß-Bartelsee bei Bromberg, Gärtnereien Sonne u. R. Böhme (B. Bauer mündl.) |
| 06 | — Bleichfelde bei Bromberg (Trilling mündl.) |
| 06 | — Jägerhof bei Bromberg, 3 Gärten A. Priebe, K. Krüger u. N. N. (B. Bauer u. N. N. mündl., besichtigt 31. Juli 1906) |
| 06 | — Anjela bei Nakel, Kreis Wirsitz (aufgefunden 17. Aug. 1906) |
| 06 | — Cielle bei Bromberg (R. Brunk mündl.) |
| 06 | — Brüdershausen, Kr. Wrongowitz |
| 06 | — Chwalibogowo, Kreis Wreschen |
| 06 | — Dratzig, Kreis Czarnikau |
| 06 | — Friedrichsdorf bei Labischin, Kr. Bromberg |
| 06 | — Rabenhorst bei Crone a. d. Brahe, Kreis Bromberg |
| 06 | — Imielno, Kreis Witkowo |
| 06 | — Buk, Kreis Graetz, Gutsgarten zu Strzempin (Distriktsamt zu B. briefl.) |
| 06 | — Samotschin, Kreis Kolmar (Magistrat zu S. briefl.) |
| 06 | — Parlin, Post Kaisersfelde, Kreis Mogilno |
| 06 | — Trischin bei Bromberg (Prof. Bock mündl.) |
| **1906** | Prov. Schleswig-Holstein: Wedel in 3 Gärtnereien (Dr. Brick briefl.) |
| 06 | — Elmshorn (idem) |
| **1906** | Großherzogt. Mecklenburg-Schwerin: Bützow a. d. Warnow |
| **1906** | Fürstentum Waldeck: N. Wildungen, Dr. Winkhaus (Ad. Wünsche schriftl. Mitt.) |

In den übrigen Landesteilen Deutschlands scheint die Stachelbeerpest noch nicht aufgetreten zu sein; ich habe in den verschiedensten Gegenden Beobachtungen angestellt oder Nachrichten gesammelt. Ueber Herkunft ist nichts Sicheres bekannt (cf. weiter unten).

Finnland (cf. Literatur No. 38).

| | |
|---|---|
| **1904** | Län Tavastehus: Janakkala an 2 Stellen [1] |
| 04 | — Vesijärvikanal, Asikkala (Prof. J. P. Norrlin) |
| 06 | — Sakkola [2] |
| **1905** | Län Nyland: Thusby [1] |
| 05 | — Helsingfors und Umgegend [1] |
| 05 | — Borgå [1] |
| 06 | — Sibbo [2] |
| 1906 | Län Nyland: Ingå [2] |
| 06 | — Snappertuna [2] |
| 06 | — Tenala [2] |
| 06 | — Wichtis [2] |
| **1905** | Län Viborg: Viborg [1] |
| 06 | — Jääskis [2] |
| **1906** | Län Åbo-Björneborg: Umgegend von Åbo [2] |

Wie mir u. a. Herr Prof. Elfving mündlich mitteilte, ist die Beerenpest in diesem Jahre in Südfinnland allgemein verbreitet. Außer auf

1) Prof. Elfving.
2) Dr. E. Reuter briefl. 15. August 1906.



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ribes Grossularia L. wurde sie auch auf R. nigrum L. beobachtet. Im mittleren und nördlichen Finnland, wo ich im August 1906 beide Ribes-Arten an vielen Orten untersuchen konnte, war von Sphaerotheca nichts zu entdecken. Herkunft Rußland?

Norwegen:

**1905** | Jarlsberg og Larvig: Langesund.

Die Krankheit scheint aus Dänemark eingeschleppt zu sein (Eriksson).

Oesterreich-Ungarn:

**1905** | Salzburg: Salzburg (Aderhold brieflich an Eriksson).

Aus den übrigen Ländern Europas, nach welchen ich Anfragen gelangen ließ, erhielt ich negativen Bescheid.

Aus der obigen Aufzählung der Standorte ergibt sich, daß sich die Mors-uvae-Krankheit in 6 Jahren von Irland (10° ö. v. Gr.) bis Tomsk in Sibirien (85° w. v. Gr.), also über mehr als einen Erdquadranten, ausgebreitet hat.

Die Nordgrenze liegt in Schweden und Finnland (62°), die Südgrenze in Südrußland, Gouvernement Stavropol, nördlich des Kaukasus (45°). Merkwürdig ist, daß der Parasit England [1]), Holland [2]), Belgien und Nordfrankreich [3]) verschont hat. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird er in diesen Ländern in den nächsten Jahren ebenfalls gefunden werden.

Die folgende Tabelle zeigt die Ausbreitung der Beerenpest in Deutschland und Europa. Die Zahlen bezeichnen die Anzahl der bekannt gewordenen Fundorte.

Ein * bedeutet, daß die Krankheit auch auf Ribes nigrum; †, daß sie auf R. rubrum gefunden wurde.

| | 1900 | 1901 | 1902 | 1903 | 1904 | 1905 | 1906 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A. Deutschland | | | | | | | |
| Pommern | — | — | — | 1† | 1† | 1† | 1† |
| Ostpreußen | — | — | — | — | 1 | 5 | 9 |
| Westpreußen | — | — | — | — | 1 | 4 | 12 |
| Posen | — | — | — | — | 1 | 6 | 21 |
| Schleswig-Holstein | — | — | — | — | — | — | 2 |
| Mecklenburg-Schwerin | — | — | — | — | — | — | 1 |
| Waldeck | — | — | — | — | — | — | 1 |
| B. Europa | | | | | | | |
| Irland | 3 | 4 | 10 | 13 | 13 | 13 | ca. 50† |
| Rußland ohne Finnland | 3 | 4 | 14 | 32*† | 47*† | 52*† | 52*† |
| Schweden | — | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | ca. 50 |
| Dänemark | — | — | 3 | 9 | 10 | 10 | 43† |
| Deutschland | — | — | — | 1† | 4† | 16† | 47† |
| Finnland | — | — | — | — | 2 | 6 | 14* |
| Norwegen | — | — | — | — | — | 1 | 1 |
| Oesterreich-Ungarn | — | — | — | — | — | 1 | 1 |
| Summa | 6 | 9 | 28 | 57*† | 78*† | 101*† | 258*† |

Zur Bekämpfung des Schädlings ist besonders in Schweden und Finnland schon mancherlei getan worden.

Herr Prof. Eriksson in Stockholm teilte mir bei meinem Besuche mit, daß er oder sein Assistent, Herr Dr. Wolff, sämtliche Infektionsherde bereist haben, um die Lebensweise des Pilzes zu studieren und gleichzeitig Anweisungen zu seiner Bekämpfung zu geben. So wären,

1) Herr Prof. Salmon brieflich 23. Oktober 1906.
2) Frl. Dir. Dr. Westerdijk brieflich 17. September 1906.
3) Prof. Flahault, H. Gagnepain u. A. brieflich 1906.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

um nur ein Beispiel anzuführen, in einer Baumschule allein 55000 Sträucher im Werte von 6000 Kronen ausgerottet worden. Gleichzeitig sind mit Chemikalien Bekämpfungsversuche angestellt worden, die allerdings nur negative Resultate ergeben haben. Schwefelkaliumbespritzungen in verschiedenen Konzentrationen beschädigten die Wirtspflanze, aber nicht den Schädling.

Bereits im September 1905 wurde ein Einfuhrverbot gegen Import von Stachelbeersträuchern erlassen. Zu Beginn dieses Jahres stellte das Landwirtschaftsministerium 1000 Kronen zur Bekämpfung der Beerenpest zur Verfügung und erließ Bekanntmachungen an alle Bezirke des Reiches. Kürzlich (August 1906) reichte der Schwedische Pomologische Verein der Regierung eine Petition ein, um zu bewirken, daß ein Kgl. Verbot auch gegen die Anpflanzung von Stachelbeersträuchern, sowie gegen den gesamten Handel mit denselben erlassen würde, daß dieses Verbot möglichst schon im September 1906 in Kraft treten möge und daß weitere Geldmittel zur Deckung privater Verluste bewilligt würden.

In Finnland kam im Februar 1906, wie mir Herr Dr. Reuter mitteilte, ein totales Einfuhrverbot für Stachelbeersträucher sowie für frische und getrocknete Stachelbeeren zu stande. Auch dort, erzählte mir Herr Prof. Elfving, sind mit großer Opferwilligkeit alle kranken Sträucher ausgerottet worden. Die Regierung beabsichtigt auch hier, die Unkostenzu ersetzen.

Um nun auch in Deutschland der Stachelbeerpest wirksam entgegenzutreten, müßten meines Erachtens zunächst dieselben Schritte unternommen werden, die in den übrigen Ländern bereits getan sind. Die Gefahr der Einschleppung ist bei uns eben so groß wie in den übrigen Ländern. Bei uns traten die ersten Infektionen an der Ostsee, speziell an den beiden Haffs, auf, die Mehrzahl der weiteren Fundorte ist an den schiffbaren Wasserstraßen gelegen. Diese scheinen also von dem Parasiten besonders bevorzugt zu werden. Meine in den Ueberschwemmungsgebieten der Weichsel, Brahe und Netze, sowie am Frischen Haff und an analogen Stellen im Ausland gemachten Beobachtungen scheinen mir darauf hinzudeuten, daß besonders die Flößerei bei der Ausbreitung der Stachelbeerpest eine große Rolle spielt. In trockenen und erhöht gelegenen Gärten fand ich Sphaerotheca fast nie. Hochstämme werden ebenfalls weniger gern befallen, doch ist u. a. Prof. Eriksson hierüber der entgegengesetzten Ansicht. Sollten Beobachtungen in dieser Beziehung sowie über das sonstige Auftreten der Stachelbeerpest, neue Fundorte etc., vorliegen, so wäre ich für gütige Mitteilungen äußerst dankbar. Durch Bespritzen mit Kupfervitriolkalkbrühe, in Abständen von 1—2 Wochen vom Herbst bis zum Frühjahr vorgenommen, sind an mehreren Orten gute Erfolge erzielt worden. Verschiedene Gärtner sprachen sich mir gegenüber in dieser Weise aus. Ich kann allerdings nicht umhin, zu bemerken, daß derartige Angaben von Personen, denen es darauf ankommt, in ihren Handelsbeziehungen nicht in Mißkredit zu kommen, stets mit größter Vorsicht aufzunehmen sind. Es ist mir z. B. nicht selten, um nicht zu sagen oft vorgekommen, daß das Vorhandensein der Stachelbeerpest von derartigen Personen mit größter Kaltblütigkeit in Abrede gestellt wurde, während ich diesen Schädling auf ihren Pflanzungen feststellen konnte. Vielleicht wird sich auch Schwefeln der Sträucher (Bepudern mit fein zerriebenem Schwefel, am besten an sonnigen Tagen nach einem Regen, ebenfalls oftmals wiederholt, oder Räuchern mit schwefliger Säure) bewähren, was bei der Bekämpfung des Rebenmeltaues z. B. in Südfrankreich so gute Dienste



Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

leistet. Daß alle erkrankten Pflanzenteile vernichtet, am besten verbrannt werden müssen, versteht sich von selbst.

Sollten indessen alle Bemühungen erfolglos sein, so muß man, je eher je besser, zu einem Mittel greifen, das überhaupt in der Phytopathologie eine große Bedeutung hat und noch mehr in Zukunft haben wird. Es gibt stets eine Reihe von Varietäten einer Pflanzen- oder Tierspecies, die einer gegebenen Krankheit größere Widerstandsfähigkeit entgegenzusetzen vermögen. Mittelst solcher Varietäten, deren Züchtung in Nordamerika bereits in großem Maßstabe begonnen worden ist, wird es möglich sein, die Kultur des Stachelbeerobstes an Stellen, wo sie durch Sphaerotheca mors uvae unmöglich gemacht worden ist, später erfolgreich wieder aufzunehmen.

**Literatur.**


1) Aderhold, R., Der amerikanische Mehltau des Stachelbeerstrauches, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. (Kaiserl. Biol. Anstalt. Flugblatt. No. 35. Berlin Juli 1905.)
2) —, id. 2. Auflage. Berlin Juli 1906.
3) Brenan, A. S., Sphaerotheca mors uvae Berk. et Curt. in Ireland. (Journ. of Bot. Vol. XXXVIII. 1900. p. 446.
4) 5) Chelchowski, S., Rosa mączna agrestu (Stachelbeermeltau). (Wszechświat (Weltall). No. 29. p. 452 und No. 39. p. 622. Warschau 1905.) [Polnisch.] (Ref. im Botanischen Centralbl. 1905. p. 486 u. 566.)
6) Eriksson, J., Amerikanska krusbärsmjöldaggen i Sverige. (Kgl. Landtbruksakademien. Flygblad No. 1. Stockholm. Juli 1905.)
7) Eriksson, J., Den amerikanska krusbärsmjöldaggen på svensk mark. (Kgl. Landtbruksakademiens Handl. och Tidskr. Stockholm 1905. p. 273.)
8) —, Den amerikanska krusbärsmjöldaggen på svensk mark. (Svenska Trädgårds föreningens Tidskrift. Stockholm 1905. p. 81.)
9) —, Den amerikanska krusbärsmjöldaggen inför Kgl. Majestät. (Trädgården. Stockholm 1905. p. 13.)
10) —, Ist es wohlbedacht, den Beginn einer planmäßigen internationalen Arbeit zum Kampfe gegen die Pflanzenkrankheiten noch immer aufzuschieben? Eine den Behörden des Pflanzenbaues in den europäischen Staaten vorgelegte Frage. Stockholm 30. Sept. 1905. (Abgedruckt in der Landw. Presse. Berlin 1905. No. 82. p. 687.)
11) —, Amerikanska krusbärsmjöldaggen (Sphaerotheca mors uvae Berk.) in Landtbruksbotanisk Berättelse af år 1906. Stockholm 28. Jan. 1906. p. 4. 1 Phot.
12) —, Der amerikanische Stachelbeermehltau in Europa, seine jetzige Verbreitung und der Kampf gegen ihn. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. XVI. 1906. Heft 2. p. 83.)
13) —, Amerikanska krusbärsmjöldaggen på allmän invandring i vårt land. (Trädgården. Aug. 1906.)
14) —, Der Kampf gegen den amerikanischen Stachelbeermehltau in Schweden. (Deutsche landw. Presse. 1906. No. 69.)
15) Hennings, P., Der Stachelbeermehltau in Rußland. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XII. 1902. p. 16.)
16) —, Ueber die weitere Verbreitung des Stachelbeermehltaues in Rußland. (Ibid. 1902. p. 278.)
17) —, Ueber die Verbreitung und das Vorkommen von Sphaerotheca mors uvae (Schwn.), dem Stachelbeermehltau, in Rußland. (Gartenflora. Bd. LI. 1902. p. 170.)
18) —, Weitere Mitteilungen über die Verbreitung und das Vorkommen von Sphaerotheca mors uvae Schwn., dem Stachelbeermehltau, in Rußland. (Ibid. Bd. LI. 1902. p. 399.)
19) 20) Jaczewsky, A. A. v., Jahresbericht über die Krankheiten und Beschädigungen an kultivierten und wildwachsenden Nutzpflanzen. (Departement für Landwirtschaft. Jahrg. I. 1903. p. 108 [erschienen 1904]. Jahrg. II. 1904. p. 82 [ersch. 1906] [russisch].)
21) Magnus, P., Ueber den Stachelbeermehltau. (Gartenflora. Bd. LI. 1902. p. 245.)
22) Massee, G., Appearance of American gooseberry-mildew in Ireland. (Gardeners Chronicle. 3. Reihe. Bd. XXVIII. 1900. p. 85. 1 Abb.)
32) Maurer, L., Der amerikanische Mehltau des Stachelbeerstrauches. (Deutsche Obstbauztg. Stuttgart 1906. p. 34.)
24) Rostrup, E., En farlig Stikkelbaersygdom indfört i Danmark. (Haven. 4. Aarg. Kopenhagen 1. Juli 1904. p. 165.)
25) —, Ibid. Kopenhagen 15. Okt. 1904. p. 250.
26) —, Gartner-Tid. 20. Aarg. 27. Okt. 1904. p. 204.
27) —, Ibid. 21. Aarg. 19. Jan. 1905. p. 15.


Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

28) Rostrup, E., Stikkelsbaerdraeberens nuraerende Udbredelse. (Haven. 6. Aarg. Kopenhagen 15. Juli 1906. p. 163.)
29) Salmon, E. S., The gooseberry-mildew. (Journ. Roy. Hort. Soc. Vol. XXIV. London 1900. p. 132. Fig. 35—37.)
30) —, Der Erdbeer- und der Stachelbeermehltau (Sphaerotheca Humuli [D.C.] Burr. und S. mors uvae [Schwn.] Berk. et Curt.). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. 1901. Heft 3. p. 78.)
31) —, The American gooseberry-mildew in Ireland. (Journ. Roy. Hort. Soc. Vol. XXVI. Part. 4. London 1902. p. 778.)
32) —, On the increase in Europe of the American gooseberry-mildew. (Ibid. Vol. XXVII. Parts 2 u. 3. London 1903. p. 596. Mit 1 Abb.)
33) —, Ueber die zunehmende Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeermeltaus (Sphaerotheca mors uvae [Schwn.] Berk. et Curt.) in Europa. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XIII. 1903. p. 205. Mit Fig.)
34) —, On the present aspect of the epidemie of the American gooseberry-mildew in Europe. (Journal Roy. Hort. Soc. Vol. XXIX. Parts 1—3. London 1905.)
35) Salmon, E. S., The present danger threatening gooseberry growers in England. (Gardeners Chronicle. Bd. XXXVIII. London 28. Okt. 1905. p. 305.)
36) —, Fortnightly Review. Nov. 1905.
37) —, Legislation with respect to plant diseases caused by fungi. (Gardeners Chronicle. Bd. XXXIX. London 27. Jan. and 3. Febr. 1906. p. 52 u. 74.)
38) Anonymus I., Den amerikanska krusbärsmjöldaggen. (Flygblad från Landtbruksstyrelsen. Mit 4 Abb. und 1 farb. Tafel. Helsingfors Febr. 1906.)
39) Anonymus II., American gooseberry-mildew. (Gardeners Chronicle. Vol. XXXIX. London 16. Jun. 1906.)

*Nachdruck verboten.*

# Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns.

Von Dr. **Rob. Stäger**, Bern.

Am 19. Mai 1905 übergab mir Herr Prof. Dr. Ed. Fischer in Bern eine Menge Sklerotien, welche er 2 Tage vorher an der Trämmelflue bei Twann am Bielersee auf Sesleria coerulea massenhaft gefunden hatte, mit dem Bemerken: dieselben möchten vielleicht noch dieses Jahr zum Keimen gebracht werden können, da sie den Winter im Freien verbracht hätten. Jedenfalls aber dürfte im Laufe des Frühsommers an jener Stelle leicht Honigtau erhältlich sein.

Da ich mich nun schon einige Jahre mit dem Mutterkorn beschäftige, fiel mir sofort auf, daß die mir überreichten Sklerotien fast alle noch an ihrer Basis einen mehligen Belag zeigten. Dieser Belag erwies sich unter dem Mikroskope als eingetrockneter Honigtau resp. als eine Unmasse Konidien.

Die meisten Sklerotien saßen auch noch ziemlich fest an den mitgebrachten Aehren der Seslerie.

Bei anderen Gräsern ist es aber äußerst selten, daß die Sklerotien auf den Wirten selbst überwintern. Wenn sie nicht vorher schon abfielen, so schüttelt sie der Herbststurm herunter auf die Erde, wo durch den Regen und den Schnee auch der Konidienbelag bald abgewaschen wird. Ich vermutete daher, es handle sich um diesjährige Sklerotien, obwohl mir bisher keine Claviceps bekannt geworden war, welche schon im Mai ihren Entwickelungsgang abschließt.

Meine Vermutung fand am 28. Mai 1905 ihre Bestätigung, indem ich gelegentlich einer Exkursion an den Brienzersee am Wege von Iseltwald nach Gießbach an den dort vorkommenden Seslerien die betreffende Claviceps in verschiedenen Stadien der Sklerotienbildung antraf. Neben ganz ausgewachsenen Sklerotien fand sich in anderen Blüten noch breiige Sphacelia mit Honigtau in Tropfen oder in Form eines klebrigen Ueberzuges.

Die Höhendifferenz zwischen Twann und Gießbach oder die Einflüsse eines verschiedenen Klimas mochten die Verspätung in der Sklerotienreife am Gießbach um 10 Tage hinausgeschoben haben.

Um nun die Gewohnheiten dieser Claviceps und den Kreis ihrer Nährpflanzen kennen zu lernen, führte ich noch in demselben Jahre die folgenden Infektionsversuche aus.

### 1. Infektionsversuche und deren Resultate im Jahre 1905.

I. Infektionsversuch mit Konidien der Claviceps von Sesleria coerulea herstammend.

Am 29. Mai 1905 wurden mit dem massenhaft Konidien haltenden Honigtau, den ich am 28. Mai am Gießbach auf Sesleria coerulea gesammelt hatte, folgende Gramineen im botanischen Institut in Bern geimpft:

$I_1$ Melica nutans,
$I_2$ Anthoxanthum odoratum,
$I_3$ " "
$I_4$ Melica uniflora,
$I_5$ Milium effusum.

Alle 5 Gräser stammten aus der Samenkontrollstation Zürich und hatten ein frisches Aussehen. Am 12. Juni 1905 zeigten sich einzig an $I_4$ (Melica uniflora) mehrere große Tropfen Honigtau, der bis zum 24. Juni durch Selbstinfektion auf der betreffenden Pflanze sich erhielt. Die anderen 4 Gräser blieben immun. Am 26. Juni konnten sogar auf Melica uniflora bis 3 mm lange ovale Sklerotien geerntet werden.

Es mußte mir natürlich darum zu tun sein, die Claviceps von Sesleria coerulea in erster Linie auf ihren eigenen Wirt zu impfen, um weiteres Infektionsmaterial zu erhalten. Da ich mich aber mit Sesleria-Pflanzen nicht vorgesehen hatte, mußte ich darauf bedacht sein, solche in der freien Natur in einem Stadium ausgraben zu lassen, in dem sie noch nicht blühten, aber der Anthese nahe waren. Am 4. Juni erhielt ich durch Herrn Rytz, Assistenten am botanischen Institut in Bern in dankenswerter Weise 5 Stöcke Sesleria coerulea samt Erdballen, die auf der Bundalp im Kienthal ausgegraben worden waren. Diese dienten zu dem folgenden Versuche.

II. Infektionsversuch mit Konidien der Claviceps von Sesleria coerulea herstammend.

Am 5. Juni wurden mit Konidien, die ich aus eingetrocknetem Honigtau am Grunde junger Sklerotien von Claviceps auf Sesleria coerulea am Gießbach gewonnen hatte, folgende Pflanzen infiziert:

$II_1$ Sesleria coerulea ⎫
$II_2$ " " ⎬ ausgegraben auf der Bundalp
$II_3$ " " ⎪ durch Herrn Rytz
$II_4$ " " ⎭

Alle 4 Seslerien hatten im Kalthaus, wo sie untergebracht waren, rasch Blüten gezeitigt, so daß sie einen schönen Impferfolg versprachen. Aber wenige Tage und die aus der Hochalpenluft in die Atmosphäre des Gewächshauses versetzten Gräser resp. deren Blütenstände waren verstroht! Wir mußten uns aufs nächste Jahr vertrösten, acclimatisierte Sesleria-Pflanzen herbeischaffen oder deren Ausgrabung wenigstens nicht unmittelbar vor der Anthese bewerkstelligen.

Um aber doch die Zeit nicht unnütz verstreichen zu lassen, operierten wir inzwischen mit dem an Melica uniflora ($I_4$) der ersten

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe aufgetretenen Honigtau weiter, obwohl wir bei dem vereinzelten positiven Erfolge nicht sicher sein konnten, daß es sich wirklich um die Claviceps auf Sesleria coerulea handle. Zwei wichtige Umstände sprachen allerdings dafür: erstens trat an $I_4$ der Honigtau genau 14 Tage nach der Infektion auf, was der normalen Inkubationszeit entspricht, und zweitens zeigten die Konidien an $I_4$ genau dieselben Maße wie diejenigen von Sesleria coerulea am Gießbach, worauf wir noch zu sprechen kommen werden.

III. Infektionsversuch mit Konidien von $I_4$ (Melica uniflora) stammend.

Am 13. Juni wurden mit den Konidien von $I_4$ folgende Gramineen geimpft:

| | | |
|---|---|---|
| $III_1$ | Melica nutans | aus der Samenkontrollstation Zürich bezogen |
| $III_2$ | „ ciliata | |
| $III_3$ | Bromus erectus | aus dem botanischen Garten in Bern |
| $III_4$ | Hordeum bulbosum | |
| $III_5$ | Festuca pseudo-myurus | |

Alle 5 Pflanzen waren und blieben während der ganzen Zeit des Versuches sehr frisch. Trotzdem war in der Folge kein positiver Erfolg zu konstatieren.

Auch ein am 14. Juni mit demselben Impfmaterial ($I_4$) angestellter Versuch (geimpft wurde 1 Brachypodium caespitosum und 1 Poa pratensis) fiel durchaus negativ aus, obwohl die beiden Gräser nicht etwa verstroht waren.

Aus Mangel an weiteren geeigneten Versuchspflanzen und Impfmaterial mußten für dieses Jahr die Infektionsversuche eingestellt werden.

Es konnte für das Jahr 1905 ein einziger annähernd gesicherter positiver Erfolg festgestellt werden: die Claviceps, die auf Sesleria coerulea vorkommt, kann auf Melica uniflora übergehen.

Wir waren nun darauf bedacht, uns um so besser für das nächste Jahr vorzubereiten, und sahen uns sowohl für Versuchspflanzen als auch um Sklerotien zur Aussaat vor. Versuchspflanzen stellte mir wie immer in loyalster Weise die eidgenössische Samenkontrollstation in Zürich zur Verfügung, währenddem ich die mir von Herrn Prof. Dr. Ed. Fischer schon im Mai von Twann mitgebrachten Sklerotien von Sesleria coerulea im Herbst zur Aussaat benutzte.

Im Juli desselben Jahres (1905) hatte ich anläßlich eines Aufenthaltes in Lauenen im Berner Oberland Gelegenheit, weitere Sklerotienfunde an Sesleria coerulea und an Anthoxanthum odoratum zu machen. Die Fundstelle liegt etwa 1400 m hoch. Anfangs Juli sammelte ich massenhaft die Sklerotien an den dort häufig vorkommenden Seslerien. Etwas später entdeckte ich an den Ruchgraspflanzen, die mit den Seslerien untermischt waren, Honigtau und Ende Juli war es mir vergönnt, an den normalerweise nur Honigtau produzierenden Anthoxanthum-Stöcken in reichlicher Anzahl ebenfalls schön entwickelte Sklerotien zu ernten.

Da, wie gesagt, bisher an Anthoxanthum odoratum nur höchst selten oder nie normal ausgebildete Sklerotien vorgefunden worden waren und da in Lauenen Sesleria coerulea und Anthoxanthum odoratum in nächster Nähe beieinander standen und die Infektion am Ruchgras nach derjenigen an Sesleria auftrat, so schien mir ein engeres Verhältnis zwischen den beiden Claviceps zu bestehen. Daher säte ich im Herbste neben den Sklerotien von Sesleria aus Twann,

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

natürlich in streng voneinander gesonderten Töpfen, auch diejenigen von Sesleria und Anthoxanthum von Lauenen aus.

Dies geschah anfangs November 1905. Im April und Mai 1906 entwickelten sich nacheinander die Keulensphäridien der drei verschiedenen Aussaaten.

Mit deren Askosporen wurden nun die drei räumlich streng gesonderten Infektionsreihen eingeleitet, die wir gleich eingehender schildern wollen.

## 2. Infektionsversuche und deren Resultate im Jahre 1906.

### Infektionsreihe A.

(Claviceps von Sesleria coerulea aus Twann.)

Am 12. April 1906 erschienen mehrere Keulensphäridien an den im vorigen Herbst ausgesäten Sklerotien von Sesleria aus Twann. Am 16. April stießen dieselben schon reife Askosporen aus. Damit wurde folgender Versuch eingeleitet.

I. Infektionsversuch mit Askosporen der Claviceps von Sesleria coerulea aus Twann herstammend.

Durch direktes Uebertragen des schleimigen, Askosporen enthaltenden Ueberzuges der Keulensphäridien genannter Claviceps auf die Blüten wurden geimpft:

$I_1$ Sesleria coerulea
$I_2$ " "
$I_3$ " "
} alle 3 Exemplare schön blühend und frisch

Die Witterung war die ganze Zeit dieses Versuches kalt und unfreundlich gewesen, aber trotzdem traten mit einiger Verzögerung am 3. Mai an $I_2$ und $I_3$ mehrere Honigtautröpfchen auf und am 15. Mai konnte ich schon einige kleine, aber wohlausgebildete Mutterkörner ernten. $I_3$ war eingegangen, da die Pflanze wahrscheinlich zu lange unter der feuchthaltenden Glasglocke gestanden hatte.

II. Infektionsversuch mit Askosporen der Claviceps von Sesleria coerulea aus Twann herstammend.

Obwohl wir nun in dem Konidien haltenden Honigtau der beiden befallenen Seslerien $I_2$ und $I_3$ zu weiteren Impfungen Material genug hatten, machten wir zunächst doch noch einen Versuch mit den Askosporen gleicher Provenienz wie bei Versuch I der Reihe A.

Wir impften damit am 3. Mai

$II_1$ Sesleria coerulea
$II_2$ " "
$II_3$ Anthoxanthum odoratum
$II_4$ " "

$II_1$ und $II_2$ ließ ich mir aus einer Handelsgärtnerei in Genf im blütenlosen Stadium schicken. Zur Zeit der Versuchsanstellung (3. Mai) waren sie aber schön aufgeblüht. Meine überwinterten Seslerien waren schon Ende April abgeblüht und konnten leider keine Verwendung mehr finden.

Die beiden Anthoxanthum odoratum waren lange vor ihrer Anthese im hiesigen botanischen Garten ausgehoben worden.

Genau 14 Tage nach der Impfung, also am 17. Mai, traten an Sesleria $II_1$ und $II_2$ die ersten Honigtautropfen auf. Sklerotienbildung fand keine statt, da beide Pflanzen später rasch verstrohten.

An Anthoxanthum odoratum $II_3$ und $II_4$ konnte ich weder am 17. Mai noch später ein Befallensein konstatieren. Wir wissen, daß

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im vorigen Jahre (1905) unsere Anthoxanthum-Versuchspflanzen auch nicht befallen wurden. Trotzdem zogen wir das Ruchgras nebst anderen Gramineen nochmals zu einem Versuche heran, bei dem wir Konidien verwendeten.

III. Infektionsversuch mit Konidien der Seslerien-Claviceps von $I_2$ und $I_3$ stammend.

Am 9. Mai infizierten wir mit den Konidien von $I_2$ und $I_3$ folgende Gräser:

$III_1$ Anthoxanthum odoratum
$III_2$ " "
$III_3$ " "
$III_4$ " "
$III_5$ " "
$III_6$ Melica nutans
$III_7$ " "
$III_8$ Lolium perenne

Lolium perenne und sämtliche Anthoxanthum odoratum, die sonst mit dem ihnen angepaßten Claviceps-Pilz so leicht und sicher zu infizieren sind, blieben nach wie vor intakt, während eine der beiden Melica nutans ($III_7$) am 24. Mai große Tropfen Honigtau produzierte, welcher aber nicht sehr zahlreiche Konidien enthielt. Sklerotien entwickelten sich keine. Die Kontrollexemplare von Melica nutans waren intakt geblieben. Der Erfolg an Melica nutans muß unbedingt direkt der Infektion mit Claviceps von Sesleria coerulea zugeschrieben werden, was auch aus der Messung der Konidien hervorgeht, wie wir weiter hinten noch sehen werden. Jedenfalls dürfte aber die Infektion an Melica nutans von der Seslerien-Claviceps aus in der freien Natur nicht gerade häufig vorkommen, da der Versuch einmal gelingt (1906) und einmal nicht gelingt (1905). Im Freien ist es mir bisher auch niemals gelungen, weder Honigtau noch Sklerotien an Melica nutans zu finden.

IV. Infektionsversuch mit Konidien der Seslerien-Claviceps, von $II_1$ und $II_2$ herstammend.

Am 20. Mai wurden mit dem an $II_1$ und $II_2$ (Sesleria coerulea) aufgetretenen Honigtau geimpft:

| | | |
|---|---|---|
| $IV_1$ | Koeleria valesiaca | von der Samenkontrollstation Zürich 1905 bezogen |
| $IV_2$ | " " | |
| $IV_3$ | Milium effusum | aus dem Berner botan. Garten |
| $IV_4$ | " " | |
| $IV_5$ | Arrhenatherum elatius | |
| $IV_6$ | Dactylis glomerata | |
| $IV_7$ | Holcus molle | |
| $IV_8$ | " " | |
| $IV_9$ | Roggen | eigene Saat |
| $IV_{10}$ | " | |
| $IV_{11}$ | " | |

Obwohl sämtliche Pflanzen sehr üppig und frisch waren und prächtig blühten, war nicht ein einziges positives Resultat zu verzeichnen.

V. Infektionsversuch mit Konidien von $III_7$ (Melica nutans) herrührend.

Am 24. Mai übertrug ich den Honigtau von Melica nutans ($III_7$) auf die Blüten folgender Gramineen:

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

$V_1$ Milium effusum
$V_2$ " "
$V_3$ Roggen
$V_4$ "
$V_5$ "

Ein Erfolg trat nicht ein, und dies bestärkte mich in der Annahme, daß die Claviceps auf Melica nutans in unserem Falle wirklich identisch sei mit der Claviceps auf Sesleria coerulea aus Twann.

### Infektionsreihe B.
(Claviceps von Sesleria coerulea aus Lauenen.)

Die Sklerotien, die wir 1905 auf Sesleria coerulea in Lauenen gesammelt und im Spätherbst desselben Jahres gleichzeitig mit den Sklerotien von Sesleria aus Twann ausgesät hatten, zögerten mit ihrer Keimung, trotzdem wir sie Mitte April 1906 in ein Warmhaus verbracht hatten, bis zum 7. Mai. Am 9. Mai konstatierten wir reife Askosporen, womit der folgende Versuch eingeleitet wurde.

I. Infektionsversuch mit Askosporen der Claviceps von Sesleria coerulea aus Lauenen stammend.

Mit den Askosporen der Sesleria aus Lauenen wurden durch Eintauchen der Rispen in die mit Wasser und reifen Keulensphäridien hergestellte Impfflüssigkeit am 9. Mai infiziert:

$I_1$ Anthoxanthum odoratum
$I_2$ " "
$I_3$ " "
$I_4$ " "
} aus dem botan. Garten in Bern ausgegraben und lange vor der Anthese eingetopft

Sämtliche 4 Versuchspflanzen, obwohl zur Zeit der Infektion schön blühend, erwiesen sich in der Folge dem Pilz gegenüber als gänzlich immun. Nach den Beobachtungen in der freien Natur (Lauenen) hatten wir erwartet, daß Anthoxanthum odoratum von Sesleria coerulea aus, die in Lauenen vorkommt, doch wenigstens in etwas infizierbar wäre.

Um ganz sicher zu gehen, wiederholten wir den Versuch, indem wir gleichzeitig auch noch andere Gramineen impften.

II. Infektionsversuch mit Askosporen der Seslerien-Claviceps aus Lauenen herstammend.

Am 25. Mai infizierten wir mit den Askosporen der Sesleria coerulea aus Lauenen durch deren direktes Uebertragen auf die Grasblüten, indem wir die schleimige Oberfläche der Keulensphäridien an den Narben der Blüten abrieben und nachher die Pflanzen unter Glasglocken, welche mit nassem Löschpapier ausgeschlagen waren, feucht hielten, folgende Gramineen:

$II_1$ Anthoxanthum odoratum
$II_2$ " "
$II_3$ " "
} aus dem botanischen Garten in Bern

$II_4$ Poa alpina
$II_5$ " "
$II_6$ Milium effusum
$II_7$ " "
} von der Samenkontrollstation Zürich bezogen

$II^8$ Holcus molle
$II^9$ Holcus lanatum
} aus dem Berner botan. Garten ausgegraben

$II_{10}$ Sesleria coerulea (aus der Samenkontrollstation Zürich, hatte es um diese Zeit noch zu einer verspäteten Anthese gebracht)

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von sämtlichen Versuchspflanzen reagierte nur, und zwar mit einem einzigen Tröpfchen Honigtau, Sesleria coerulea ($II_{10}$). Diese Sesleria war ein schmächtiges Exemplar und ging bald durch seine Besitznahme durch die Claviceps ein. Alle anderen Gräser und besonders auch die Anthoxanthum-Exemplare nahmen den Pilz nicht an.

Weder am 8. Juni, wo ich den Honigtau an Sesleria $II_{10}$ konstatierte, noch bei späteren Revisionen entdeckte ich an ihnen Folgen der Infektion.

Daß sich die Claviceps auf Sesleria coerulea von Lauenen ganz ähnlich verhielt, wie die von Twann, machte uns in unserer Ansicht allerdings schon jetzt wankend; aber volle Ueberzeugung von der Identität der beiden Seslerien-Claviceps von Twann und von Lauenen konnten uns erst vermehrte Infektionsversuche verschaffen.

III. Gemischter Infektionsversuch mit Konidien von $II_{10}$ der Reihe B und mit Askosporen der Seslerien-Claviceps aus Lauenen.

Das einzige Tröpfchen Honigtau an der Seslerie $II_{10}$ schien mir ungenügend zu einer einwandfreien Impfung mehrerer Pflanzen, und deshalb nahm ich noch den Rest der Keulensphäridien von Sesleria coerulea aus Lauenen zu Hilfe. Auf diese Weise infizierte ich am 8. Juni:

$III_1$ Roggen }
$III_2$ " } eigene Saat
$III_3$ " }
$III_4$ " }
$III_5$ Lolium perenne (botanischer Garten, Bern)
$III_6$ Dactylis glomerata } aus dem Berner botan. Garten
$III_7$ Poa pratensis } vor der Anthese ausgegraben
$III_8$ Sesleria coerulea
$III_9$ " "
$III_{10}$ " "
$III_{11}$ " "
$III_{12}$ Holcus molle (aus dem bot. Garten in Bern ausgegraben)
$III_{13}$ Melica uniflora } von der Samenkontroll-
$III_{14}$ Milium effusum } station Zürich bezogen
$III_{15}$ Koeleria valesiaca }
$III_{16}$ Arrhenatherum elatius (aus dem bot. Garten in Bern)

Die 4 Stöcke Sesleria coerulea verdankte ich Herrn Lehrer Streun, Sohn in Emdtal, der mir dieselben ca. 2000 m hoch von der Nordflanke des Niesen im Berner Oberlande herunterholte. Ohne diese dankenswerte Freundlichkeit des genannten Herrn wäre es mir sonst unmöglich gewesen, den Versuch um diese vorgerückte Zeit noch anzustellen.

Zwar muß ich bemerken, daß 2 der 4 Seslerien, $III_8$ und $III_{10}$ in der total anders gearteten Atmosphäre des Gewächshauses ziemlich rasch verstrohten; an $III_9$ und $III_{11}$ aber trat nach 12 Tagen schon, also am 20. Juni, ziemlich reichlicher Honigtau auf.

Das genügte uns, um von der Wirksamkeit unseres gemischten Impfmaterials überzeugt zu sein. Dessenungeachtet blieben alle anderen Gräser des Versuches III B vollständig intakt.

An der Identität der beiden Claviceps auf Sesleria in Twann und in Lauenen war nun wohl nicht mehr zu zweifeln, aber weil nur wiederholte und unter den gleichen Bedingungen immer wieder eintretende negative Resultate beweisend

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sein können, so suchten wir der Frage von der anderen Seite beizukommen, und machten Kreuzimpfungen mit der Claviceps, die wir auf Anthoxanthum odoratum in Lauenen gesammelt hatten, was uns zur Versuchsreihe C führt.

## Infektionsreihe C.

(Claviceps von Anthoxanthum odoratum aus Lauenen.)

Die Sklerotien, die wir im vorigen Jahr in Lauenen auf Anthoxanthum odoratum gefunden und im Spätherbst ausgesät hatten, brachten am 20. April 1906 ihre ersten Stromata hervor, denen sich bald weitere anschlossen, so daß es an Askosporen zur Infektion nicht fehlte.

I. Infektionsversuch mit Askosporen der Anthoxanthum-Claviceps aus Lauenen.

Mit den Askosporen von Anthoxanthum odoratum aus Lauenen wurden am 4. Mai 1906 geimpft:

$I_1$ Anthoxanthum odoratum } von der Lauener Kontrollstation Zürich bezogen
$I_2$ „ „ }
$I_3$ „ „ } aus dem Berner botanischen Garten ausgegraben
$I_4$ „ „ }
$I_5$ Sesleria coerulea } 8 Tage vor der Anthese aus Genf bezogen
$I_6$ „ „ }

Schon am 16. Mai waren die Rispen der 4 Exemplare von Anthoxanthum odoratum $I_1$ bis $I_4$ strotzend voll von Honigtautropfen und bis in die ersten Tage des Juni hatten sich eine Menge schön entwickelter und großer Sklerotien ausgebildet.

Wir hatten zur Zeit die Claviceps purpurea Tulasne vom Roggen mehrmals auf Anthoxanthum odoratum übertragen[1]), ohne jemals normal entwickelte Sklerotien ernten zu können. Ueber die Honigtaubildung und Anfänge von Sklerotienentwickelung hinaus brachte es der Pilz auf Anthoxanthum nie. Um so überraschender war uns das Ergebnis vom 4. Mai 1906. Wir werden noch hierauf weiter hinten zu sprechen kommen.

Die beiden Seslerien $I_5$ und $I_6$ blieben immun, obwohl sie recht frisch aussahen und durchaus nicht etwa verstroht waren.

II. Infektionsversuch mit Konidien von $I_1$ bis $I_4$ der Versuchsreihe C.

Am 26. Mai übertrugen wir Honigtau der Anthoxanthum-Claviceps $I_1$ bis $I_4$ C auf die Blüten folgender Gräser:

$II_1$ Lolium perenne } botanischer Garten Bern,
$II_2$ „ „ }
$II_3$ Koeleria valesiaca (Samenkontrollstation Zürich),
$II_4$ Poa pratensis } aus dem Berner botanischen Garten ausgegraben und vor der Anthese eingetopft
$II_5$ „ pratensis }
$II_6$ Dactylis glomerata }
$II_7$ „ „ }
$II_8$ Roggen (eigene Saat),
$II_9$ Milium effusum (Samenkontrollstation Zürich),
$II_{10}$ Arrhenatherum elatius (botanischer Garten Bern).

Am 10. Juni war Poa pratensis $II_5$ massenhaft von Honigtautropfen befallen, während $II_4$ einige Tage später nur wenige vorübergehende Tröpfchen zeigte. Die beiden Dactylis, der Roggen, Milium effusum und Arrhenatherum elatius waren in sehr schlechtem

1) Siehe Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden Claviceps-Arten. (Bot. Ztg. 1903. Heft 6/7. p. 111—158.)

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zustande und teilweise verstroht. Koeleria valesiaca und die beiden Lolium perenne waren zwar frisch und hatten gut entwickelte Inflorescenzen, zeigten aber doch keine Spuren einer Claviceps-Infektion. Wir sahen uns daher veranlaßt, weitere Impfungen zu veranstalten.

III. Infektionsversuch mit Konidien der Anthoxanthum-Claviceps $I_1$ bis $I_4$ der Versuchsreihe C.

Mit dem an vielen Rispen neben vollentwickelten Sklerotien immer noch frisch sich bildenden Honigtau von $I_1$ bis $I_4$ infizierten wir am 9. Juni folgende Pflanzen:

$III_1$ Roggen, $III_2$ „, $III_3$ „ } Pflanzen eigener Aussaat,
$III_4$ Holcus molle, $III_5$ Dactylis glomerata, $III_6$ Arrhenatherum elatius } im Berner botanischen Garten vor der Anthese ausgegraben und eingetopft
$III_7$ Sesleria coerulea, $III_8$ „ „, $III_9$ „ „ } von Herrn Streun, Lehrer, am Niesen ausgegraben

$III_8$ Sesleria coerulea ging bald zu Grunde, die beiden übrigen $III_7$ und $III_9$ waren üppig entwickelt, blieben aber immun. Mit den sämtlichen Roggen $III_1$—$III_3$ hatte ich das Mißgeschick, daß sie dieses Mal im Gewächshaus nicht gut gediehen und fast alle Aehren „matsch" wurden. $III_6$ Arrhenatherum elatius zeigte am 21. Juni einen großen Tropfen Honigtau, ebenso Holcus molle $III_4$, während Dactylis $III_5$ nicht befallen war.

Daß die Claviceps von Anthoxanthum odoratum in Lauenen trotz ihres natürlichen Standortes in nächster Nähe von Sesleria coerulea mit der Claviceps des letzteren Grases nicht identisch sein kann, war uns aus dem mehrfachen negativen Resultat der Impfung klar geworden. Wir wünschten aber doch noch eine kräftigere Reaktion des fraglichen Pilzes auf seinen vermutlichen Wirten zu konstatieren und veranstalteten daher, da es uns zu dieser Zeit an weiteren günstigen Versuchspflanzen gebrach und weil auch bei vorgerückter Jahreszeit infolge der Hitze die Gräser in den Gewächshäusern nicht gut fortkommen, im Freiland des hiesigen botanischen Gartens die folgende Impfung.

IV. Infektionsversuch mit Konidien der Anthoxanthum-Claviceps $I_1$ bis $I_4$ der Versuchsreihe C.

Mit den an den 4 Anthoxanthum-Stöcken immer wieder neu auf jüngeren Rispen auftretenden Honigtau infizierten wir am 19. Juni im Freiland des botanischen Gartens folgende Gräser:

| | |
|---|---|
| $IV_1$ Roggen, | $IV_5$ Roggen, |
| $IV_2$ „ | $IV_6$ Anthoxanthum odoratum, |
| $IV_3$ „ | $IV_7$ Gerste, |
| $IV_4$ „ | $IV_8$ Poa pratensis. |

Die 5 Roggen $IV_1$ bis $IV_5$ standen mitten in einem ganzen Beet blühenden Roggens; Anthoxanthum odoratum $IV_6$ war ein verspätetes Exemplar im Reservekasten meiner Versuchspflanzen. Ebenda fand sich eine blühende Gerste $IV_7$ und ein Poa pratensis $IV_8$.

Um die 5 Roggen $IV_1$—$IV_5$ vor den anderen Roggenpflanzen kenntlich zu machen, knüpfte ich bunte Fäden um die Halme der Aehren, die ich impfte. Das Feuchthalten der infizierten Aehren durch Gläser, wie ich das regelmäßig im Gewächshaus ausführte, fiel in der freien Natur weg. Am 30. Juni konstatierte ich an $IV_1$, $IV_3$, $IV_4$ und $IV_5$ fast an allen einzelnen Aehren prächtige Honigtautropfen, während es mir an den über

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

200 anderen nicht infizierten Aehren der umstehenden Roggenpflanzen in nur zwei Fällen gelang, eine schwache Honigtaubildung festzustellen. Es müßte mehr als Zufall sein, wenn wir bei diesem Verfahren gerade solche Aehren zur Infektion auserlesen hätten, welche ohne unser Zutun schon im voraus befallen gewesen wären.

Auch der gleiche Termin des Befallenseins (30. Juni, resp. 11 Tage nach der Infektion) spricht unbedingt zu unseren Gunsten.

Die einzelnen Rispen von $IV_6$ Anthoxanthum odoratum konnten wir nicht mehr auffinden; $IV_7$, die Gerste, war nicht befallen, dagegen tropfte $IV_8$ (Poa pratensis) förmlich von Honigtau.

Dieser Versuch im Freien hat uns volle Gewißheit gegeben, daß die Claviceps auf Anthoxanthum odoratum in Lauenen mit der Claviceps auf Sesleria coerulea nichts zu tun hat, sondern daß sie vielmehr mit der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens identisch ist resp. als eine auf Anthoxanthum odo rathum reichlich Sklerotien bildende Varietät des typischen Roggenmutterkorns angesehen werden muß.

Der Versuch hat noch ein weiteres Interesse. Er lehrt uns, daß Claviceps-Impfungen im Freien sehr wohl gute, unanfechtbare Resultate liefern können, wenn sie richtig angestellt und kritisch genug verwertet werden.

Solche Versuchsanstellungen haben sogar vor denen im geschlossenen Raum manches voraus, indem sie sich unter völlig normalen Bedingungen abspielen. Viele Versuche scheitern im Gewächshaus einfach wegen des vorzeitigen Eingehens oder Verstrohens der hineingebrachten Gräser. In der freien Natur versäume man nur nicht, mit Massen zu arbeiten und genügende Kontrollpflanzen bereitzuhalten, dann können die gewonnenen Resultate eben so hohen oder höheren Wert beanspruchen wie die im geschlossenen Raum erzielten. Denn absolut ausgeschlossen sind Fehlerquellen (besonders durch Uebertragen der Sporen durch Insekten!) im Gewächshaus auch nicht.

### 3. Rückblick auf die bei den Infektionsversuchen mit der Seslerien-Claviceps aus Twann, der Seslerien-Claviceps aus Lauenen und der Anthoxanthum-Claviceps aus Twann in den Jahren 1905 und 1906 erzielten Resultate.

Aus den bisherigen Infektionsversuchen ergibt sich folgendes:

a) Die Seslerien-Claviceps aus Twann befällt:

Sesleria coerulea, Melica nutans.
Melica uniflora,

Sie befällt aber nicht:

Anthoxanthum odoratum, Holcus molle,
Hordeum bulbosum, Milium effusum,
Festuca pseudomyurus, Brachypodium caespitosum.
Arrhenatherum elatius, Lolium perenne,
Poa pratensis, Bromus erectus,
Secale cereale, Koeleria valesiaca,
Dactylis glomerata, Melica ciliata.

b) Die Seslerien-Claviceps aus Lauenen befällt:

Sesleria coerulea.

Sie befällt nicht:

Anthoxanthum odoratum, Secale cereale,
Holcus molle, Dactylis glomerata,
Holcus lanatum, Poa pratensis,

Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Arrhenatherum elatius, Lolium perenne,
Poa alpina, Melica uniflora,
Milium effusum, Koeleria valesiaca.

c) Die Anthoxanthum-Claviceps aus Lauenen befällt:
Anthoxanthum odoratum, Holcus molle,
Poa pratensis, Secale cereale.
Arrhenatherum elatius,

Sie befällt nicht:
Sesleria coerulea,
Lolium perenne,
Koeleria valesiaca,
Dactylis glomerata (in schlechtem Zustand),
Milium effusum (in schlechtem Zustand),
Gerste (einzelnes Exemplar! im Freiland).

Diese Tatsachen beweisen zur Genüge die Identität der Seslerien-Claviceps aus Twann und der Seslerien-Claviceps aus Lauenen. Der Pilz beider Standorte geht in keinem Falle auf Anthoxanthum odoratum über, aber auch nicht auf den weiteren Nährpflanzenkreis der typischen Claviceps purpurea Tulasne des Roggens, also nicht auf Secale cereale, Arrhenatherum elatius, Dactylis glomerata, Holcus molle u. s. w.

Daß die Claviceps von Sesleria aus Twann auf Melica uniflora und Melica nutans überzugehen vermag, während die Claviceps von Sesleria aus Lauenen das einzige (!) Versuchsobjekt Melica uniflora ($III_{13}$ der Infektionsreihe B) verschmäht, spricht nicht gegen die Identität der beiden örtlich getrennten Pilze, denn ein einziges negatives Resultat sagt hier gar nichts aus. Wie wir wissen, befiel die Claviceps von Sesleria aus Twann im Jahre 1905 Melica nutans auch nicht ($I_1$ 1905), während im Jahre 1906 dies der Fall war ($III_7$ Infektionsreihe A).

Die Infektionsergebnisse sprechen ferner deutlich genug für die Differenz von Claviceps auf Sesleria und Claviceps auf Anthoxanthum odoratum aus Lauenen. Die Seslerien-Claviceps hat auch keine Beziehungen zu Milium effusum und Brachypodium[1]), ebensowenig wie zu Lolium perenne und Bromus erectus, für welche zwei letzteren Gramineen wir zur Zeit ebenfalls eine besondere biologische Art der typischen Claviceps purpurea Tulasne nachgewiesen haben[2]).

Hieraus folgt, daß die Claviceps auf Sesleria coerulea, die wir Claviceps Sesleriae nennen, zum mindesten ebenfalls als biologische Art der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens angesprochen werden muß, wenn es sich nicht vielmehr um eine neue echte Art (Species) des Genus Claviceps handelt. Für die letztere Ansicht sprechen die Größenverhältnisse der Konidien der in Frage stehenden Claviceps Sesleriae. Die Konidien der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens messen (mit dem Okularmikrometer 3 und Objektiv 7, Leitz, gemessen) 7 $\mu$ in die Länge und 3,5 $\mu$ in die

1) Im Jahre 1904 gelang es uns, die Claviceps auf Milium und Brachypodium als eine besondere biologische Art der Species Claviceps purpurea Tulasne des Roggens festzustellen. Siehe „Weitere Beiträge zur Biologie des Mutterkorns" im Centralblatt für Bakteriologie, Parasit. und Infekt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. No. 1.

2) Siehe Botan. Ztg. 1903. Heft 6/7. Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden Claviceps-Arten.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Breite. Die Konidien der Claviceps microcephala Tulasne auf Phragmites communis sind (auf gleiche Weise gemessen) 7—8 μ lang und 3,5 μ breit. Die Konidien der Claviceps Sesleriae weisen mit ebendemselben Instrument gemessen folgende Dimensionen auf: Länge 10,5—14 μ, Breite 3,5—5,2—7 μ. Die Konidien der Claviceps Sesleriae sind also viel größer als die Konidien der bisher bekannten Claviceps-Arten. Ferner zeigt der Durchschnitt des Sklerotiums bei Claviceps Sesleriae ein besonderes Bild, das man bei den Sklerotien anderer Claviceps-Arten vergebens sucht. Mitten in dem weißen Mark des Mutterkornes befindet sich nämlich eine dunklere Partie, die sich von dem hellen Grund sternförmig abhebt. Auf mikroskopischen Schnitten ist dieser Stern durchscheinender als die umgebenden Partieen.

An den Keulensphäridien konnten wir keine Unterschiede finden. Die Askosporen hatten wir leider näher zu untersuchen unterlassen.

Diagnosis Clavicipitis Sesleriae Stäger:

Stroma sive sclerotium fungilli vulgo lineare-oblongum, obsolete trigonum, rectum arcuatumve, e parenchymate densissimo duro albido constat, cujus media pars in stellae figuram redacta obscura. — Capitula crassa, primum pallida luteolaque, postea purpureo-violacea.

Spermatia ovato-elliptica, 0 mm, 0105 usque ad 0 mm, 014 circiter longa; 0 mm, 0035 usque ad 0 mm, 007 lata, nonnihil in medio constricta praetereaque nucleolis duobus oppositis donata.

Was die Claviceps auf Anthoxanthum odoratum aus Lauenen betrifft, so gehört dieselbe zu der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens, da sie deren typische Nährpflanzen (Roggen, Arrhenatherum elatius, Holcus molle, Poa pratensis) leicht, dagegen Sesleria coerulea, Lolium perenne u. s. w. trotz vieler Versuche gar nicht befällt. Da sie aber in Lauenen (und wie ich seither im Kiental beobachtet habe) regelmäßig und massenhaft normale Sklerotien ausbildet, so muß sie als eine Sklerotien bildende Varietät der typischen Claviceps purpurea Tulasne des Roggens aufgefaßt werden.

Zum Schluß danke ich außer den genannten Herren und Instituten besonders Herrn Prof. Dr. Ed. Fischer, Direktor des botanischen Gartens in Bern, sowie Herrn Obergärtner Schenk daselbst recht herzlich, da sie durch Rat und Tat wesentlich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

## Inhalt.

**Gruber, Th.**, Einige Untersuchungen und Beobachtungen an den echten Milchsäureerregern des Molkereigewerbes, p. 755.
—, Ueber die Ursache der braunroten Färbung von Hart- und Weichkäse, p. 761.
**Herter, Wilhelm**, Die Ausbreitung der Stachelbeerpest, Sphaerotheca mors uvae (Schweinitz) Berkely in Europa im Jahre 1906, p. 764.
**van Hest, J. J.**, Pseudovakuolen in Hefezellen, p. 689.
**Müller, Leo**, Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft. (Schluß), p. 713.
**Stäger, Rob.**, Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns, p. 773.
**Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Schluß), p. 693.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVII. No. 25.

## Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

*Nachdruck verboten.*

### Mikrobiologische Gesellschaft zu St. Petersburg.

Sitzung vom $\frac{17.\text{ Februar}}{2.\text{ März}}$ 1906.

**Dzierzgowski, S. K.,** Zur Theorie der Wirkung der künstlichen biologischen Filter.

Nach kurzem Ueberblick über die bestehenden Theorieen der Wirkung biologischer Filter teilt Vortragender seine eigenen Untersuchungen mit, die auf die Prüfung der Hauptpunkte dieser Theorieen gerichtet sind. Hierbei geht Vortragender näher auf diejenigen seiner Versuche ein, durch welche das Maß der Resorption verschiedener in den Abwässern vorkommender Substanzen bestimmt wird; ferner auf die Bedeutung der Absorption für die reinigende Funktion der Filter; endlich auf die Fragen, wieviel organische Substanz tatsächlich in den Filtern vernichtet wird, in welcher Periode der Filterfunktion diese Zersetzung stattfindet und von welchen Prozessen dieselbe begleitet wird. Die ausführliche Mitteilung der im Vortrage referierten Untersuchungen erscheint in den „Archives des sciences biologiques".

Sitzung vom $\frac{12.}{25.}$ Mai 1906.

**Dzierzgowski, S. K.,** Zur Frage von der Bedeutung der Faulbassins für die biologische Reinigung von Abwässern.

Vortragender teilt seine Versuche mit, die er auf der Versuchsstation zu Zarskoje-Selo beziehentlich folgender zwei Fragen ausgeführt hat: 1) Wieviel organische Substanz wird in den Faulbassins zerstört und 2) inwieweit werden die Abwässer nach vorausgegangener fauliger Gärung im Septictanc zur nachfolgenden Reinigung in den Kontaktfiltern befähigt?

Vortragender kommt auf Grund eines großen Versuchsmateriales zu dem Schluß, daß das Faulbassin die organischen Substanzen nur sehr langsam zerstört, d. h. im Verhältnis zu der Menge der in das Bassin gelangenden organischen Substanzen das Zersetzungsprozent nur sehr gering ist, und ferner, daß die Abwässer, welche der fauligen Gärung unterworfen waren, für die weitere Reinigung in den Oxydationskörpern weniger geeignet sind. Mithin erscheint das Bassin, nach der Meinung des Vortragenden, für die Oxydationsfilter eher schädlich als nützlich.

Sitzung vom $\frac{20.\text{ Januar}}{2.\text{ Februar}}$ 1906.

**Palladin, W.,** Die Atmungsenzyme der Pflanzen.

Verf. ist zu folgenden Schlüssen gekommen:

1) Die anaërobe Atmung ist eine primäre Erscheinung. Sie herrscht in den embryonalen Organen vor und sinkt mit dem Uebergang zum Stadium des aktiven Lebens. Sie ist am schwächsten in Organen, die ihr Wachstum eingestellt haben. Dieser Schluß stimmt mit der Tatsache überein,



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß nur die niederen Pflanzen, die gewissermaßen ihr ganzes Leben im embryonalen Stadium bleiben, zu einer mehr oder weniger anaëroben Lebensweise befähigt sind.

2) Die Menge der Oxygenase ist in den embryonalen Organen minimal. Sie steigt mit dem Uebergange zum Stadium des aktiven Lebens und sinkt in den Organen, die ihr Wachstum eingestellt haben.

3) Jede Schädigung des anatomischen Baues und der zelligen Struktur der abgetöteten Pflanzen wirkt störend auf die Arbeit der Atmungsenzyme.

**Dzerjgowsky, S.**, Zur Frage über die Desinfektion von Abwässern.

Vortragender berichtet über die Resultate seiner Desinfektionsversuche, welche er mit Chlorsuperoxyd und mit Ozon sowohl an ungereinigten als auch in verschiedenen Stadien der biologischen Reinigung befindlichen Abwässern angestellt hat. Nach den Angaben des Vortragenden könnte Chlorsuperoxyd mit Vorteil zum Zwecke der Desinfektion angewendet werden, wenn nicht die Giftigkeit des Superoxyds selbst, sowie seine Zersetzungsprodukte, die chlorsauren Salze, dagegen sprächen, die infolge ihrer Stabilität sogar 8 Tage lang ihre giftigen Eigenschaften für die Wasserbewohner bewahren.

Ozon hat als Desinfektionsmittel den Vorzug gegenüber allen übrigen, daß sein Zersetzungsprodukt, der Sauerstoff, nicht nur nicht schädlich, sondern im Gegenteil sogar sehr vorteilhaft für das Wasser ist.

Der Vortragende betont, daß Ozon nur zur Desinfektion von Wasser mit geringem Oxydationsvermögen, nicht über 40 mg $KMnO_4$ pro Liter, angewendet werden kann, und deswegen bei den Abwässern der Versuchsstation zu Zarskoje-Sielo nur nach deren Passage durch das dritte Oxydationsbassin gute Resultate gegeben hat.

Da das Ozon sehr wenig wasserlöslich ist und zur Erzielung der Desinfektion eine innige Mischung des Gases mit Wasser unbedingt notwendig ist, so meinte der Vortragende, daß die Ozondesinfektion eine Oberflächendesinfektion ist und nur an den Stellen direkter Berührung von Wasser und Gas stattfindet.

Die Details des Vortrages sind in Bd. XII, No. 3 der Archives des Sciences biologiques mitgeteilt.

---

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

### Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

**Stockhausen, Ferdinand**, Oekologie, „Anhäufungen“ nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht. (Wochenschrift für Brauerei. Bd. XXIII. No. 19. p. 232—234; No. 20. p. 241—243; No. 21. 253—256; No. 22. p. 273—275; No. 23. p. 281—284; No. 24. p. 293—296; No. 25. p. 307—311; No. 26. p. 323—326; No. 27. p. 342—346; No. 28. p. 356—359; No. 29. p. 368—371; No. 30. p. 386—390.)

Systematische Zusammenstellung der Beijerinckschen Arbeiten, welche sich mit der Anhäufung einer bestimmten Mikroorganismenart befassen in Medien mit reichhaltiger Mikroorganismenflora — Garten-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erde, Kanalwasser, Schlamm u. s. w. — durch Wahl geeigneter Kulturbedingungen, also mit Hilfe der Mittel der natürlichen Reinzucht im Sinne Delbrücks. Mohr (Berlin).

**Rothenbach, F.,** Fortzüchtung von Reinzucht-Essigbakterien und ihre Uebertragung in den Betrieb. (Deutsche Essigindustrie. Bd. X. No. 20. p. 162—163; No. 21. p. 169—170.)

Die auf Gelatine oder Agar gezüchteten Essigbakterien müssen zur Erhöhung ihres reduzierten Säurebildungsvermögens vor Einführung in den Betrieb in Kulturflüssigkeiten (Wein oder Bier) mit steigendem Gehalt an Alkohol und Essigsäure gezüchtet werden, zunächst in Kölbchen, schließlich in umgekehrt aufeinandergestülpten Kulturdoppelschalen, um gute Hautbildung zu ermöglichen. Die Züchtung der Essigbakterien geschieht am besten bei Temperaturen von 25—31°. Auch in der Essigstube soll namentlich bei der Angärung die Temperatur mindestens 25° betragen. Bei Uebertragung der Reinkulturen in den Betrieb zur Erzeugung von Essig nach dem Orleansverfahren wird am besten pasteurisierte Maische verwendet.

Zur Benutzung der Reinzuchten im Schnellessigbildner müssen die Bakterien in den vorbereitenden Kulturen, wenn möglich, auf eine Säureproduktion von 7—9 Proz. gebracht werden. Die Einführung in den Betrieb geschieht zunächst in einen kleinen, völlig sterilisierten Bildner, der vor Zugabe der Bakterien mit ca. 100 Liter sterilisiertem Bier oder Weinessig eingesäuert wird. Verf. gibt einen ungefähren Plan für den Betrieb dieses Bildners, in dem der Einsäuerungsessig für die großen Bildner gewonnen wird. Der Bildnerraum ist während der Einsäuerung und der Inbetriebsetzung auf 15—23° zu halten. Mohr (Berlin).

**Rothenbach, F.,** Zur Systematik der Essigbakterien. (Deutsche Essigindustrie. Bd. X. No. 24. p. 193—194.)

Verf. erweitert eine früher von Henneberg gegebene Tabelle (Deutsche Essigindustrie. 1898. p. 145ff.), die sich aus dem Verhalten der untersuchten Essigbakterien gegenüber den Zuckerarten, einer Anzahl Alkoholen u. s. w. ergibt: ob Säurebildung eintritt oder nicht. Rothenbach führt noch an, ob in der betreffenden Stofflösung eine Entwickelung der Bakterien stattfindet oder nicht. Vielfach dürften sich in den Fällen, wo keine Säurebildung, wohl aber gute Bakterienentwickelung zu beobachten war, anderweitige Oxydationsvorgänge an den betreffenden Stoffen auffinden lassen, wie z. B. die bereits bekannte Oxydation des Mannits zu Lävulose. Mohr (Berlin).

---

## Betriebslaboratorium der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin.

**Schönfeld, F.** und **Rommel, W.,** Die Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin. Mitteilung aus dem Betriebslaboratorium. Mitgeteilt von W. Rommel. Mit einer Tafel. (Wochenschrift für Brauerei. 1906. No. 40—43.)

Die beiden, dem Typus Frohberg angehörenden untergärigen Hefen, welche sich in der Brauerei seit 3 bezw. 7 Jahren gut bewährt haben, wurden vergleichenden Untersuchungen unterzogen, die sich im wesentlichen auf ihre morphologischen Eigenschaften unter verschiedenen Kulturbedingungen, auf ihre chemische Zusammensetzung, ihre physikalischen Eigenschaften und ihr physiologisches Verhalten erstreckten. Die Widerstandsfähigkeit der beiden Hefen gegen verschiedene Tempe-



Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

raturen, ihr Triebkraftvermögen und ihr Verhalten im Brauereibetriebe, insbesondere der Einfluß, den jede der Hefen auf die Eigenschaften des Bieres ausübt, wurden untersucht.

Die Hefezellen sind in Bezug auf Form und Größe deutlich verschieden; Hefe D zeigt mehr längliche, fast wurstförmige Elemente wie Hefe K, die vorzugsweise kugelige und eiförmige Zellen aufweist. Hefe D neigt mehr zur Sporenbildung wie Hefe K. Im hängenden Tropfen wie im Einschlußpräparat zeigen sich ebenfalls charakteristische Unterschiede in Form und Größe der Zellen; Sproßverbände werden von der Hefe K schneller und in größerer Zahl gebildet wie von Hefe D.

Die Verwendung verschiedenartiger fester und flüssiger Nährböden ergab, daß Unterschiede im Wachstum als Riesenkolonieen und Unterschiede in der Form, der Größe und im Inhalt der Zellen vorzugsweise auf Nährböden mit Bierzusatz auftraten.

Der Eiweißgehalt ist bei Hefe K durchweg höher wie bei Hefe D, dasselbe ist beim Aschen- und Phosphorsäuregehalt der Fall. Durchschnittlich beträgt dieser Mehrgehalt beim Eiweiß 6 Proz., bei der Asche 1 Proz. und bei der Phosphorsäure 0,4 Proz. Hefe D scheint mehr wie Hefe K zur Bildung von Glykogen hinzuneigen.

Hefe K besitzt ein höheres spezifisches Gewicht wie die Hefe D. Der Wassergehalt der gepreßten Hefen ist gleich und beträgt wenig über 70 Proz.

Die Lagerfestigkeit der Hefen ist eine sehr verschiedene, die Selbstverdauung tritt bei allen Temperaturen bei Hefe K schneller ein wie bei Hefe D. Die Hefe K, sowohl die dem Gärbottich wie die dem Lagerfaß entnommene, besitzt eine bedeutend höhere Triebkraft wie die entsprechende D-Hefe. Beide Hefen entwickeln die größte Triebkraft bei etwa 35° C. Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Stadien der Gärung entnommenen Hefen gegen höhere Temperaturen zeigten ebenfalls eine größere Empfindlichkeit bei Hefe K. Die Hefen sind 2—4 Tage nach dem Anstellen mit Würze am widerstandsfähigsten gegen die Einwirkung höherer Temperaturgrade.

Das Einsetzen der Gärung erfolgt bei Hefe K schneller wie bei Hefe D, bei Temperaturen über 30° wird die Gärfähigkeit der K-Hefe in viel stärkerem Maße geschwächt wie bei der D-Hefe.

Die Kahmhautgeneration von Hefe K ist im stande, mehr Kohlehydrate zu vergären wie die Bodensatzhefe, ein Unterschied, der bei Hefe D sehr unbedeutend ist.

Im Brauereibetriebe vergärt Hefe K im Bottich um etwa 10 Proz. höher wie D, neben schnellerer Angärung gibt sie auch hellere Bierfarbe. Während die Hefen die Nachgärung auf dem Lagerfaß verschieden beeinflussen, auch auf den Biergeschmack nicht ganz ohne Einwirkung sind, üben sie keinen verschiedenen Einfluß aus auf die Schaumhaltigkeit oder die Kälteempfindlichkeit des Bieres.

Die Endvergärung ist bei beiden Hefen die gleiche. Es ergibt sich demnach, daß bei diesen beiden dem gleichen Typus angehörenden Heferassen im morphologischen Verhalten neben manchen Verschiedenheiten auch viele Uebereinstimmungen, dagegen im physiologischen Verhalten und im Verhalten im Brauereibetriebe sehr weitgehende Unterschiede auftreten. Auch in Bezug auf ihre chemische Zusammensetzung und ihre physikalischen Eigenschaften lassen sich zahlreiche tiefgehende Unterschiede feststellen. Autoreferat.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Henneberg, W.,** Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien (Beschreibung 5 neuer Essigbakterien und des B. xylinum mit 9 Zeichnungen und einer Tafel mit 28 Photogrammen von 15 Essigbakterienarten.) (Die deutsche Essigindustrie. 1906. No. 11—18; Wochenschr. f. Brauerei. 1906. No. 22—28.)

In dieser Zeitschrift Bd. XIV. 1905. No. 22/23 wurde bereits berichtet, daß es dem Verf. gelungen ist, in der Versuchsessigfabrik des Instituts für Gärungsgewerbe mit Schnellessigbakterien in Reinkultur Schnellessig (Spritessig) und ebenso mit reingezüchteten Weinessigbakterien Weinessig nach dem Orleansverfahren herzustellen. Ueber die diesen Versuchen vorhergehenden. Untersuchungen in der Schnellessigfabrik wurde schon in dieser Zeitschrift Bd. XVI. 1906. No. 17/19 referiert. Auf p. 591 desselben Bandes findet sich ferner ebenso ein Referat über die für den Essig und also auch für die Essigmaische anzuwendenden Pasteurisierungstemperaturen.

Verf. hat in der vorliegenden Arbeit die für die Praxis der Schnellessig- und Weinessigfabriken wichtigen Bakterienarten, die bisher noch fast nicht bekannt waren, zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht.

Bisher besaßen wir nur durch die Arbeiten von Beijerinck und Hoyer (diese Zeitschrift. Bd. IV. 1898) einige Kenntnisse über das physiologische Verhalten dieser technisch wichtigen Bakteriengruppe. Die morphologischen Untersuchungen fehlten bisher fast vollständig.

Beijerinck nennt die Schnellessigbakterien, zu denen auch die Weinessigbakterien als Varietäten gehören sollen, „Bacterium aceti (Pasteur)", weil nach seiner Ansicht Pasteur aus bestimmten Gründen solche Arten vor sich gehabt haben müsse. Verf. schließt sich Hansens Ansicht an (diese Zeitschrift. Bd. VII. p. 440) und sieht ebenfalls zurzeit keinen Grund, die Bezeichnung „aceti" allein für die Schnellessigbakterien anzuwenden, besonders da Hansen schon früher eine Bieressigbakterienart mit diesem Namen bezeichnet hat.

Da einige von Beijerinck und Hoyer angegebene Merkmale, wie z. B. das schleimige Wachstum auf Rohrzucker-Biergelatine und das Wachsen in einer bestimmten Nährlösung (in 100 ccm Leitungswasser 3 Proz. Alkohol, 0,05 Ammonphosphat, 0,01 Chlorkalium, einige Tropfen Essig- oder Phosphorsäure) nicht bei den dem Verf. vorliegenden Arten beobachtet werden konnte, erschien eine genauere Beschreibung und Neubezeichnung der untersuchten Arten zurzeit gerechtfertigt. Im Interesse der Praxis ist ein Auseinanderhalten der einzelnen Formen, mögen es nun Rassen oder Arten sein, nötig, um die brauchbaren und unbrauchbaren Essigbakterien unterscheiden zu können.

Die große Aehnlichkeit einer Weinessigbakterienart (B. xylinoides) mit dem früher von Brown beschriebenen Bacterium xylinum machte eine Vergleichung beider notwendig. Letztere Art mußte zu diesem Zweck ebenfalls nochmals genauer untersucht werden.

Außer den Photogrammen der 5 neu beschriebenen Arten sind auch solche von 10 früher durch Hansen (B. aceti, B. Pasteurianum, B. Kützingianum), Beijerinck (B. rancens, B. rancens var. zythi) und den Verf. (B. oxydans, B. acetosum, B. ascendens, B. acetigenum) beschriebenen Arten der Arbeit beigegeben, um ein Vergleichen mit den neuen zu ermöglichen. Letztere

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden außerdem in den am häufigsten beobachteten Formen vom Verf. gezeichnet. Hervorzuheben sind auch Abbildungen von Schnitten durch die Buchenholzspäne aus arbeitenden Schnellessigbildnern.

### Schnellessigbakterien.

Die 3 Schnellessigbakterienarten (B. Schüzenbachi, B. curvum, B. orleanense) stammten aus ein und demselben Schnellessigbildner der Versuchsessigfabrik. Sie wurden dadurch erhalten, daß von den Buchenholzspänen aus dem gut arbeitenden Bildner geringe Flüssigkeitsmengen abgeschabt und in mit Würze vermischte Essigmaische eingebracht wurden. (Als Essigmaische ist hier und im folgenden stets eine alkoholhaltige, essigsaure mit Stärkesirup und anorganischen Nährsalzen versetzte Flüssigkeit, wie sie in der Versuchsessigfabrik und auch sonst oft in der Praxis Anwendung findet, bezeichnet.) Nachdem sich hier die Essigbakterien angereichert hatten, gelang ohne jede Mühe die Reinkultur auf ungehopftem Würzeagar in Petri-Schalen.

#### 1. Bacterium Schüzenbachi (n. sp.).

Diese nach Schützenbach, dem Erfinder des deutschen Schnellessigverfahrens, genannte Art bildet auf Würzegelatine rundliche, glänzende, wasserhelle Kolonieen mit gelblichbrauner Mitte. Auf Biergelatine mit und ohne Zusatz von 10 Proz. Rohrzucker war in älteren Kulturen das Aussehen der Kolonieen weißlich, mit gekörnter Oberfläche. Ebenso wie auf Würzeagar bildeten sich oft auch hier zunächst einzelne Kolonieen, die später zu einer zusammenhängenden Pilzmasse zusammenwuchsen.

Die Farbe der Einzelkolonieen auf Würzeagar war gelblichbraun, ihre Größe betrug nach 8 Tagen etwa $^1/_2$ mm und nach 2 Monaten 2—3 mm.

Die Hautbildung auf Flüssigkeiten ist fast regelmäßig ohne jeden festeren Zusammenhang. Oft entstehen zunächst viele einzelne runde Inseln auf der Oberfläche, die im weiteren Verlauf zusammenwachsen. Beim Berühren des Gefäßes sinkt die Haut sehr leicht in Staubform unter. Die Hautbildung ist je nach der Art der Kulturflüssigkeit oft verschieden. Aeltere Pilzhäute auf Weinessigmaische (d. i. Wein, der stark mit Wasser und Essig verdünnt ist) nehmen eine rotbraune Färbung an.

Die Zellen sind rund, eiförmig oder länglich, öfters auch sichelförmig oder unregelmäßig gebogen mit abgerundeten oder zugespitzten Zellenden. Es finden sich einzelne, oder zu zwei und mehr in Ketten vereinigte Zellen vor. Sehr verschieden geformt sind bisweilen die Zellglieder in ein und derselben Zellkette und oftmals merkwürdigerweise so gelagert, daß die am meisten gebogene Seite der gekrümmten Bakterienzellen abwechselnd nach der einen oder der anderen Richtung gewendet ist.

Während in Würze mit 3 Proz. Alkohol längere Zellketten häufig zu beobachten sind, finden sich in Agarkulturen meist kleine, rundliche Zellen vor. In Reinkulturschnellessigbildnern, die mit dieser Bakterienart eingesäuert (s. unten) waren, konnten ebenfalls neben regelmäßig geformten, mäßig langen Stäbchen ganz verschieden gestaltete Zellen, z. B. kurze oder langgestreckte, mondförmig gebogene Zellen oder längere Zellfäden aufgefunden werden. Man kann daher selbstverständlich aus der Form der Zellen in den Bildnern nicht auf das Vor-

Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

handensein einer oder mehrerer Arten Schlüsse ziehen. Hypertrophisch aufgetriebene Zellen waren in den Hautinseln, die nach einiger Zeit auf dem Ablaufessig der Reinkulturbildner entstanden waren, zu bemerken.

Die Größe der Zellen in 10-tägigen Kulturen in mit Würze vermischter Essigmaische war etwa 1,6—2,4 : 0,3—0,4 $\mu$ und in gleichaltrigen Würzekulturen 1—3,6 : 0,3—0,4 $\mu$.

Schwärmzellen und besondere Färbungen durch Jod fehlen, erstere fehlen überhaupt bei sämtlichen 5 Arten.

Bei 37° C war kein Wachstum, bei 34—35° nur geringes und erst bei 25—30° ein gutes. Das Optimum für Essigmaischekulturen scheint bei 25—27,5° C zu liegen. Bei diesen Temperaturen entwickelten sich die Bakterien auch in den stehenden Essigproben aus Nichtreinkulturbildnern am günstigsten. In den Bildnern der meisten Essigfabriken herrscht jedoch eine Temperatur von 30—35° C vor, so daß für das Wachstum der Bakterien demnach hier ziemlich ungünstige Bedingungen vorliegen.

Bei 17—19° tritt spät, bei 13—15° sehr spät und bei 7,5° überhaupt keine Entwickelung ein.

Bei günstiger Temperatur findet unter gewissen anderen Bedingungen eine weitere Oxydation der Essigsäure statt.

Wie weiter unten noch berichtet wird, läßt sich diese Art mit Erfolg in Schnellessigbildnern in Reinkultur benutzen. Es dürfte diese Art, wie die folgende, ein echtes Schnellessigbakterium sein.

### 2. Bacterium curvum (n. sp.).

Auf Würzegelatine waren die Kolonieen durchsichtig, rundlich und mit erhöhtem Rand und erhöhter Mitte, öfters auch weißlich und trockener.

Ein Unterschied der Kulturen auf Biergelatine mit und ohne Rohrzuckerzusatz (10 Proz.) konnte auch hier nicht beobachtet werden.

Der Grad der Feuchtigkeit der Kolonieen oder der zusammenhängenden Pilzmassen auf Würzeagar war recht verschieden. Die Färbung war hier weißlich oder hellbräunlich.

Der Zusammenhang in den Hautbildungen auf Flüssigkeiten ist sehr gering, so daß ein leichtes Untersinken und infolgedessen starke Trübungen der Kulturflüssigkeiten zu beobachten sind.

In Würze mit 3 Proz. Alkohol hatten sich runde, weiße Inseln gebildet, die beim Bewegen des Kulturgefäßes an der Glaswand haften blieben.

In alten Kulturen auf Bier fanden sich auf der gleichmäßigen, durchsichtigen Unterlage der Haut unzählige, 1 mm große, glänzende, hellbraune, erhabene Kolonieen vor, ohne daß dadurch der Zusammenhang ein festerer geworden war.

Die Zellen sind rundlich-eiförmig, länglich-eiförmig oder langgestreckt mit rundlichen oder zugespitzten Enden. Besonders charakteristisch sind die mehr oder weniger stark und regelmäßig oder unregelmäßig gebogenen Zellen, weshalb der Name B. curvum für diese Art gewählt wurde. Es kommen kurze Zellen oder längere Zellketten und Zellfäden zur Beobachtung.

In alten Agarkulturen werden die Zellen vielfach klein und fast rundlich. Eine unsichtbare Schleimschicht müssen die in Würze mit

Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

3 Proz. Alkohol gewachsenen Bakterien besitzen, da sie oft aneinander kleben.

Bei der Färbung nehmen oft manche Stellen der Bakterienzellen bei dieser und auch bei den übrigen Arten die Farbe intensiver auf als der übrige Zellteil. Die für manche Essigbakterienarten charakteristische Kettenbildung in hängenden Tröpfchen konnte bei keiner der hier beschriebenen Arten wahrgenommen werden.

Die Größe der Zellen in Agarkulturen ist 1,6—4 $\mu$, meist 2—2,4 : 0,4—0,5 $\mu$, in Würze mit Essigmaische 1,6—12 : 0,3—0,4 $\mu$. Schwärmzellen und besondere Färbungen durch Jod fehlen. In den Pilzmassen auf Rohrzuckeragar wurden auffallend viele Kristalle gefunden (oxalsaurer Kalk).

Bei 39° C trat keine Entwickelung ein, bei 35° in Agarkulturen eine mäßige und in Essigmaische nach 3 Wochen eine gute. Bei 30°, später auch bei 25—30° liegt das Optimum. Bei 16—17° ist nur ein geringes Wachstum und bei 7—8° fehlt solches völlig.

### 3. Bacterium orleanense (n. sp.).

Die einzelnen Kolonieen auf Würzegelatine sind unregelmäßig geformt und von weißlicher Färbung. Ihre Größe betrug am 2. Tage etwa 1 mm. In Strichkulturen entstehen oft schleimige, wasserhelle, herabfließende Massen mit gelbbraunem Niederschlage im Innern.

Auf Biergelatine konnten bei einem Stamm feuchte, strukturlose Kolonieen neben trockenen, nicht glatten und in der Mitte buckelförmig erhöhten beobachtet werden. Diese Unterschiede verschwanden allmählich mit dem Alter, es entstanden rötlich gefärbte, feuchte, glänzende Kolonieen. Auch auf Biergelatine mit Rohrzuckerzusatz konnten ähnliche Unterschiede im Aussehen der Kolonieen festgestellt werden.

Auf Würzeagar in Strichkultur bildete der eine Stamm einzelne, feuchtglänzende, wasserhelle Kolonieen, die auch auf dem herabgeflossenen Kondenswasser als einzelne weißlich gefärbte, feste Inseln wuchsen, während bei einem anderen Stamm ein zusammenhängender wasserheller Ueberzug entstand, in dem später ein hellbräunlicher Niederschlag und einzelne ebenso gefärbte, rundliche, deutlich sich abhebende Einzelkolonieen zu bemerken waren.

Bei Rohrzuckerzusatz waren die Verhältnisse bei einem Stamm ebenfalls durch Mangel an Schleimbildung ausgezeichnet.

Charakteristisch für diese Art ist der fast stets feste Zusammenhang der Häute auf Flüssigkeiten, die infolgedessen meist völlig blank bleiben.

Auf Würze mit 3 Proz. Alkohol bildeten sich zunächst kleine, runde, isolierte Kolonieen wie auf der Gelatineoberfläche in Petri-Schalen. Diese lagern sich später zu größeren, lose zusammenhängenden Inseln zusammen oder bilden eine gleichmäßige, zusammenhängende, dünne, ziemlich trockene, mäßig feste Haut. Beim Bewegen des Kulturgefäßes entstehen in letzterer eng aneinander gereihte parallele Falten, die in der Ruhe sofort wieder verschwinden. Mit der Platinnadel läßt sich diese elastische Haut oft in einem Stück herausheben. Beim Aelterwerden der Kultur entstehen von selbst zarte, unregelmäßig angeordnete Faltenbildungen, die der Haut ein Aussehen etwa wie fein zerknittertes Seidenpapier geben. Wird die Kultur noch älter, so kann die Haut im ganzen Umfange oder stellenweise eine dicke, glänzende Beschaffenheit

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

annehmen und infolgedessen äußerlich wie eine Haut von B. xylinum (s. unten) aussehen. Der für B. xylinum typische sehr feste Zusammenhang fehlte jedoch in solchen Kulturen bisher vollständig.

Auf Bier fand sich ebenfalls entweder eine gleichmäßige, fester zusammenhängende oder eine aus vielen kleinen inselartig über die Flüssigkeitsoberfläche hervorragenden Kolonieen zusammengesetzte Haut ein.

Auf Roggen-Malzmaische war die Haut dicker und spröder, so daß sie sich beim Bewegen des Kulturgefäßes in größere Fetzen leicht zerteilte.

Weinessigmaische ließ ebenfalls auf der Oberfläche zuerst einzelne erhabene Kolonieen (manchmal 2 mm groß) entstehen, die später eine gleichmäßige oder eine mit weißlichen Punkten (dichteren Stellen) durchsetzte mattglänzende Haut bilden. Im Alter schließlich erhält die Haut eine rötlichbraune Färbung. Da der gebildete Weinessig stets völlig blank bleibt, ist diese Art für die Weinessigfabrikation nach dem Orleansverfahren (s. unten) gut geeignet, weshalb der Name B. orleanense gewählt wurde. Die Tatsache, daß in den Schnellessigbildnern auch brauchbare Weinessigbakterien vorkommen, geht auch schon daraus hervor, daß man oftmals die Weinessigmaische mit Essig aus den Schnellessigbildnern anzustellen pflegt.

Mit Wasser verdünnte Essigmaische wies ebenfalls die oben beschriebene schöne, elastische Haut auf. Aehnlich war es in mineralischen Nährlösungen, doch trübte sich hier die Flüssigkeit in starkem Maße.

Die Zellen sind kugelig oder ausgesprochen stäbchenförmig, dazwischen finden sich alle möglichen Uebergangsformen. Die Stäbchen können gerade oder gebogen, einzeln oder in Ketten vereinigt sein. Oft sind einzelne der Kettenglieder hypertrophisch aufgeschwollen.

In Weinessigmaische waren die Zellen besonders langgestreckt, in Würze mit Alkoholzusatz mehr gedrungen, dagegen in Würzeagar fast rundlich. Biergelatine mit Rohrzuckerzusatz hatte langgestreckte Zellen. Bemerkenswert ist, daß in den Reinkulturschnellessigbildnern diese Bakterienart fast genau die gleichen Zellformen wie das B. Schüzenbachi unter den gleichen Bedingungen aufwies.

Die Abmessungen der Zellen in Essigmaische mit Wasser und Würzezusatz waren 1,6—2,4 : 0,3—0,4 $\mu$ und in Agarkulturen 1,2 bis 2,1 : 0,4—0,5 $\mu$.

Schwärmzellen und besondere Jodfärbungen fehlten.

Bei 39° C fehlt jedes Wachstum. Bei 35—36° ist es nur sehr gering. Bei 30°, später auch bei 20—30° liegt das Optimum. Bei 16 bis 17° stellt sich ebenfalls ein noch gutes, wenn auch spätes Wachstum ein, dagegen bleibt es bei 14—15° gering und bei 7—8° bleibt es gänzlich aus.

In Essigmaische ging die Säuerung bei 30—34° etwas schneller als bei 28° vor sich. Bei nicht zu hohen Temperaturen wurde die entstandene Essigsäure in den längere Zeit stehenden Kulturen wieder aufgezehrt. Hierbei ist aber auch Bedingung, daß die entstandene Säuremenge nicht zu groß war.

Diese Art ist sowohl als Schnellessig-, wie als Weinessigbakterie brauchbar (s. unten).

**Weinessigbakterien.**

Verf. untersuchte bisher eingehend zwei größere Weinessigfabriken in Berlin (nach dem Orleansverfahren) in bakteriologi-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scher Hinsicht. Es fand sich in der einen in dicht nebeneinander stehenden Essigkufen B. xylinum, B. xylinoides (n. sp.) und B. vini acetati (n. sp.). Die zweite Fabrik zeigte noch besser, wie verschiedenartig die „Gärungen“ in der Essigfabrik zurzeit noch vor sich gehen: von 3 gleichzeitig mit Schnellessig angesäuerten Weinessigmaischen enthielt die erste nur Kahmhefe, die zweite das B. xylinoides und die letzte neben B. ascendens das B. xylinum. Die Essigbildung war dementsprechend ganz verschieden weit vorgeschritten und ebenso wies die „Klarheit“ und der Geruch des Essigs große Unterschiede auf. Diese Befunde zeigen recht deutlich, wie unsicher das zurzeit noch übliche Arbeiten mit nicht reingezüchteten Essigbakterien ist. Der Nutzen der Anwendung von Reinzuchtbakterien liegt hier so klar vor Augen, daß es zu verwundern ist, daß nicht schon früher diese Bakterien zum Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen gemacht wurden.

### 4. Bacterium xylinoides n. sp.

Auf Würzegelatine bildet diese Art Kolonieen, die wie Wassertropfen aussehen, oftmals in der Mitte einen hellbräunlichen Kern besitzen und keine fadenziehende Beschaffenheit aufweisen. In Strichkulturen auf Würzegelatine fließt die zuerst wasserhelle, später weißlich gefärbte Pilzmasse allmählich herunter.

Biergelatine mit und ohne Rohrzuckerzusatz ließ einen feuchtglänzenden hellbräunlichen Ueberzug entstehen.

Auf Würzeagar war die verschiedene Ausbildung des Schleimes manchmal auffallend. Die Temperatur scheint dabei auch von bestimmendem Einfluß zu sein.

Die Hautbildung auf Flüssigkeiten kann bei dieser Art auffallend verschieden ausfallen. Wir können eine dünne, mäßig fest zusammenhängende Haut, wie wir sie häufig bei B. orleanense beobachten, ferner eine voluminös-schaumige (wie aus geronnenem Eiweiß bestehend), zusammenhanglose, etwas schleimige Haut und schließlich eine dicke, sehr zähe, genau so wie sie für B. xylinum charakteristisch ist („Xylinumhaut“), hauptsächlich unterscheiden. Es gibt nun allerlei Uebergänge zwischen den genannten Hautbildungen, oft finden sie sich nebeneinander in demselben Kulturgefäß vor.

Die zähe Xylinumhaut — das Bakterium erhielt wegen seiner Aehnlichkeit mit B. xylinum die Bezeichnung B. xylinoides — findet sich regelmäßig auf Zuckerhefewasserkulturen ein. Dieselbe Beschaffenheit kann die Haut auch auf anderen Flüssigkeiten, wie z. B. Bier, Malz-Roggenmaische und Weinessigmaische annehmen. Der Zucker ist nicht allein die Ursache, da Weinessigmaische mit Zuckerzusatz nicht die zähe Haut entstehen ließ.

In Würze mit Alkoholzusatz war die Haut entweder von Anfang an aus einzelnen weißlichen Inseln zusammengesetzt oder sie war glatt mit verschieden großen, aufgelagerten Kolonieen oder schließlich wie eine ältere Bieressigbakterienhaut brüchig und die Flüssigkeit stark trübend. Am Rand des Gefäßes bildete sich öfters durch Zusammenschieben der Hautfalten ein weicher, dicklicher Ring.

Aus praktischen Gründen wurde das Wachstum auf Weinessigmaische eingehend untersucht. Da diese Art in Weinessigfabriken sehr häufig zur Anwendung kommt, würde es nämlich von großem Nutzen sein, sie schon durch die Beschaffenheit der Haut erkennen zu können.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Laboratoriumversuchen mit unverdünnter Weinessigmaische (z. B. 8,3 Proz. Alkohol, 2,6 Proz. Essigsäure) konnte bei allen zuerst vorgenommenen Untersuchungen nur eine dünne, ziemlich trockene Haut beobachtet werden. Bei späteren Versuchen war die Haut deutlich fester (etwa zwischen B. acetigenum und B. xylinum in der Festigkeit stehend) geworden. Die Haut zeigte im Alter öfter zarte sich übereinander schiebende Falten. Sie kann aber auch in der Mitte des Kulturgefäßes, wohin die Impfhaut übertragen war, ungleichmäßig und gelbbräunlich werden und aus einzelnen, über die Flüssigkeitsoberfläche emporragenden Kolonieen bestehen, während der Rand wasserhell, gleichmäßig, glatt und zäh wie die Haut des B. xylinum sein kann. Schließlich kann die Haut in manchen Versuchen vollständig wie eine Xylinum-Haut aussehen, doch viel weniger fest als eine solche sein.

In großen Fabrikversuchen nach dem Orleansverfahren (60 l Weinessigmaische) entstand die Haut meist gleichzeitig von der Gefäßwandung und von den eingebrachten Hautinseln aus. Die Beschaffenheit war trotz gleicher Behandlung oftmals recht verschieden:

Kufe I zeigte am 13. Tag eine zarte, graue, durchsichtige Haut, die nach weiteren 3 Tagen durch Dickenzunahme mehr weißlich wurde, schließlich etwas unter die Oberfläche sank und ein marmoriertes Aussehen und eine klebrige Beschaffenheit annahm.

Kufe II wies eine typische glatte, feuchtglänzende, zähe Xylinum-Haut auf.

Kufe III hatte ebenfalls eine Xylinum-Haut, doch waren in dieser unregelmäßig zerstreut völlig anders aussehende Stellen. Letztere waren von gelbbräunlicher Färbung, etwas emporragend, mattglänzend und sehr locker. Beim Herausnehmen der Haut fielen diese lockeren Stellen sofort heraus, so daß rundliche, verschieden große Löcher in der zähen, schwer zerreißbaren Haut entstanden. Manchmal bestand auch ein großer Teil, sogar die Hälfte der Haut, aus solchen lockeren Massen.

Kufe IV sah wieder ganz anders aus, indem die ganze Haut aus lockeren, etwas schleimigen, hellbräunlichen voluminösen Massen bestand, die ohne festeren Zusammenhang waren. Letztere hatten etwa das Aussehen wie geronnenes Eiweiß und konnten selbst durch heftiges Schütteln nicht zerteilt werden, so daß die Flüssigkeit völlig klar blieb.

Trotz vieler Laboratoriumsversuche mit verschiedensten Zusätzen u. s. w. zu verdünnten Weinessigmaischen ließ sich bisher keine bestimmte Gesetzmäßigkeit für die Hautbeschaffenheit ausfindig machen. Es scheint häufiges Uebertragen von Hautteilchen aus Flüssigkeiten das Dickenwachstum (Xylinum-Haut) zu begünstigen. Erwähnt muß noch werden, daß auf einer aus 2 Teilen Weinessigmaische und 3 Teilen sehr verdünnter Würze bestehenden Flüssigkeit sich zwei Arten inselartiger Kolonieen gebildet hatten. Es waren größere, wasserhelle, flache, kaum über die Flüssigkeitsoberfläche hervorragende und daneben kleinere, festere, weißlich gefärbte Hautinseln vorhanden. Bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung konnte man bemerken, daß die Gruppierung der Bakterien in diesen eine verschieden dichte war. Nach dem Uebertragen dieser verschieden aussehenden Hautkolonieen in Gefäße mit gleicher Flüssigkeit entstanden entweder wiederum Inseln von verschiedenem Aussehen oder trockene, brüchige, hellbräunliche Häute oder schließlich feste Xylinum-Häute. Eine Regelmäßigkeit war gar nicht zu erkennen. Nach einiger Zeit war das Aussehen der Häute in

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den verschiedenen Gefäßen ziemlich gleichmäßig geworden: Die Unterlage war wie eine zusammenhängende Xylinum-Haut, auf der zerstreut erhabene, bräunliche Kolonieen wuchsen und in welcher dünne, leicht herausfallende, gefaltete, trockene Hautstellen als Nester eingeschlossen waren. Es bot sich also ein ganz ähnliches Bild, wie manchmal in den Fabrikversuchen.

Die Zellen sind völlig rund, kurz oder lang stäbchenförmig. Sie sind gerade oder gebogen oder unregelmäßig geformt, einzeln oder zu zwei und mehreren zu Ketten verbunden. Bisweilen finden sich auch hypertrophisch aufgeschwollene Zellen zwischen den normalen in den Ketten vor.

In den verschieden aussehenden Hautteilen auf Flüssigkeiten war oft kein mikroskopischer Unterschied der Zellen aufzufinden. Manchmal enthielt der Xylinum-ähnliche Rand der Häute jedoch genau die gleichen langen, fädigen Zellen wie eine Haut des B. xylinum. In anderen Fällen, wie in Rohrzuckerhefewasserkulturen, waren dagegen die Zellen der zähen Xylinum-Haut nur kurz.

Bisweilen konnten verschiedene Zellformen in der Haut derselben Kultur vorhanden sein, indem sich an manchen Stellen hypertrophisch aufgetriebene Zellen, an anderen normale oder auffallend kleine, besonders schmale und gebogene Zellen vorfanden. Das Aussehen der Häute ist aber, wie gesagt, durchaus nicht davon abhängig, sondern scheint durch die Art und die Masse des gebildeten Schleimes bedingt zu werden.

In verdünnter Weinessigmaische mit Sodazusatz wurden sehr langgestreckte Zellformen mit dünner Schleimschicht beobachtet. Sie klebten im mikroskopischen Präparat zusammen, ohne sich völlig zu berühren.

Alte (2 Monate) Agarkulturen enthielten auffallend kleine, kokkenförmige Zellen.

Die Größe der Zellen in Würze mit Alkoholzusatz war 1,2—2 : 0,8 $\mu$ und in Agarkulturen 0,5—0,8 $\mu$ (runde Zellen) oder 1,2 : 0,5 $\mu$.

Die dicken, Xylinum-ähnlichen Häute ergaben, wie die des B. xylinum, bei Behandlung mit Jod und Schwefelsäure die Cellulosereaktion, die dünnen Häute dagegen nicht.

Bei 35° ist nur geringes Wachstum vorhanden.

Die günstigste Wachstumstemperatur war bei 28°, später bei 20—23° in Agarkulturen und bei 30°, später auch bei 17—28° in Essigmaischekulturen. Bei 14° konnte nur spät eine geringe Entwickelung, dagegen bei 6° während der ganzen Versuchsdauer überhaupt keine beobachtet werden.

Wichtig für die Praxis ist, daß in Weinessigmaischen die günstigste Entwickelungstemperatur näher bei 24° als bei 28° C liegt und daß bei 21° etwas später und bei 32° kein Wachstum mehr stattfand.

Diese Art wurde wiederholt in Weinessigfabriken der verschiedensten Gegenden (auch am Rhein) vorgefunden.

### 5. Bacterium xylinum (Brown).

Die Kolonieen auf Würzeagar sind feuchtglänzend, hellbräunlich, rundlich mit erhöhter Mitte und etwas gekörnter Oberfläche.

Auffallend ist der Unterschied im Wachstum auf Biergelatine

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ohne und auf solcher mit 10 Proz. Rohrzuckerzusatz, da in letzterem Falle das Bakterium viel üppiger und viel schleimiger wächst.

Die Haut auf Flüssigkeiten ist überall die gleiche, zuerst wasserhelle, später weißliche, dicke, zähe Lederhaut, die schon im Alter von einigen Tagen mit der Platinnadel nicht zerteilt und im späteren Alter auch mit den Fingern nur mit einer gewissen Kraft zerrissen werden kann. Bei der Bildung dieser Haut entsteht entweder von Anfang an eine die ganze Flüssigkeitsoberfläche überziehende, wasserhelle, gallertartige Decke, oder es bilden sich zuerst einzelne feste, rundliche Inseln mit dichterer Mitte und wasserhellem Rande.

Die Haut sinkt leicht im ganzen Stück unter und ersetzt sich bald durch eine gleiche wieder. Von den auf dem Boden liegenden Schleimstücken, wie z. B. nach der Impfung, gehen zarte, schleimige Fäden aus, welche die Flüssigkeitsoberfläche zu erreichen suchen.

Die Zellen sind meist länglich, kurz- oder langstäbchenförmig oder fädig. Sehr charakteristisch sind spiralig oder unregelmäßig gebogene Zellfäden und die häufigen, verschieden geformten hypertrophischen Zellen. Oft kommen auch Zellketten mit regelmäßig geformten Einzelgliedern vor. Die Zellenden sind häufig zugespitzt.

In derselben Hautmasse finden sich vielfach sehr verschieden aussehende und verschieden große Zellen nebeneinander vor. Wie schon aus dem starken Lichtbrechungsvermögen zu ersehen ist, sind stellenweise ganze Hautteile in abgestorbenem Zustande. Am meisten regelmäßig sind die Zellen in den Agarkulturen. Hier sind längere Zellfäden nur vereinzelt, dagegen Zellketten häufig zu finden. Die einzelnen Zellen sind offenbar mit einer dünnen Schleimschicht umgeben, denn häufig findet man in den Präparaten Bündel von 30 und mehr parallel dicht aneinander gelagerter Zellen vor.

Biergelatine ohne Zuckerzusatz wies dagegen anscheinend schleimlose Zellen auf. In Würzeagar mit 10 Proz. Rohrzucker waren auffallend viele hypertrophische Zellen zu finden.

Erwähnenswert ist, daß in hängenden Würzetröpfchen mit Alkoholzusatz die Zellen oft im Aussehen an den Kulturmilchsäurebacillus der Brennereimaische (B. Delbrücki) sehr erinnern. Eine Schleimbildung war hier anscheinend nicht vorhanden. Vielfach waren äußerst lange Zellfäden neben sehr langen, dünnen Stäbchen vorhanden.

Die einzelnen Zellen in 5-tägigen Würzekulturen maßen $2:0{,}5\ \mu$ und die Zellfäden z. B. $19-37:0{,}5\ \mu$. Ebenso alte Würzeagarkulturen enthielten einzelne Zellen, die $0{,}8-1{,}6:0{,}4\ \mu$ maßen und Zellfäden z. B. von $25{,}6:0{,}4\ \mu$.

Die Schleimmassen geben die Cellulosereaktion. Schwärmzellen fehlen.

Diese Art wuchs in Würzeagarkulturen bei 35° nicht mehr, dagegen bei 26—32° sehr gut. In Rohrzuckerhefewasser war selbst noch bei 35—38° Wachstum zu finden. Eine Unterscheidung des B. xylinum von dem B. xylinoides durch die Temperaturverhältnisse gelang bisher nicht.

### 6. Bacterium vini acetati (n. sp.).

Auf Würzegelatine und Würzeagar sind die Kolonieen rundlich, feuchtglänzend, wasserhell mit weißlichem Niederschlag in der Mitte. In älteren Strichkulturen fließt die Bakterienmasse von der schräg erstarrten Gelatine allmählich herunter.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Biergelatine mit und ohne Rohrzuckerzusatz läßt keinen Unterschied im Wachstum bemerken. Die Pilzmasse ist unter solchen Kulturbedingungen von weißlicher Färbung.

Die Häute auf Flüssigkeiten weisen keinen festeren Zusammenhang auf, infolgedessen trüben sich die Flüssigkeiten sehr häufig. Die Trübung verschwindet allmählich wieder.

Das Aussehen der Haut auf Würze mit 3 Proz. Alkohol ist fettig glänzend, hellgelblich und sehr zart.

Auf Rohrzuckerhefewasser war die Hautbildung nur sehr gering, dagegen die Trübung von Beginn an sehr stark.

Weinessigmaische zeigte eine zarte, bräunliche, feuchtglänzende Haut, die später eine rotbraune, schließlich eine braunschwarze Färbung annahm.

An nassen Glaswänden vermag die Bakterienhaut emporzusteigen.

Auf Pepton und Liebig Fleischextraktlösungen war eine glänzende, etwas dickliche, weißlich gefärbte Haut entstanden.

Die Form der Zellen ist rundlich, eiförmig, länglich-eiförmig und nur selten mäßig langgestreckt. Die Zellen sind einzeln oder zu zweien und dreien verbunden. Aeltere Agarkulturen enthielten kleine streptokokkenartige Zellen. Aufgetriebene, gekrümmte oder spindelförmige Zellen fanden sich in Biergelatine mit 10 Proz. Rohrzuckerzusatz.

Die Größe der Zellen in Agarkulturen war etwa 0,8—2 : 0,3—0,8 $\mu$ und in Essigmaische mit Würze- und Wasserzusatz 1,2—2,1 : 04 $\mu$.

Bei 36° ist noch mäßiges Wachstum zu finden. Das Optimum liegt bei 28—33°. Bei 15—19° ist die Entwickelung sehr langsam und bei 8,5° bleibt sie gänzlich aus.

---

Da es sich zum Teil um technisch sehr gut verwertbare Bakterienarten hier handelt, wurden die Ernährungsverhältnisse, das Verhalten den verschiedenen Zucker- und Alkoholarten, ebenso verschiedenen Essig- und Alkoholmengen gegenüber eingehender untersucht. Besonders war auch das Säuerungsvermögen und das Verhalten der genannten Bakterien bei der Anwendung in Reinkultur im großen zu untersuchen. Nur das wichtigste mag hier berichtet sein, in der ausführlichen Arbeit sind die einzelnen Versuche genauer geschildert worden.

## 1. Ernährung.

Es mag vorweg bemerkt sein, daß das Arbeiten mit den genannten Essigbakterien öfters ein recht unsicheres ist. Oft blieb ohne ersichtlichen Grund bei der einen oder anderen Art jede Entwickelung in Nährflüssigkeiten aus, unter anderen anscheinend unwesentlich veränderten Verhältnissen fand sich dagegen eine üppige Entwickelung. Man kann annehmen, daß nur bei sehr günstigen Ernährungsverhältnissen wirklich sichere Ergebnisse zu finden sind.

Künstlich zusammengesetzte Nährlösungen mit anorganischem Stickstoff (Ammonsulfat, Ammonphosphat) waren nur in einzelnen Fällen günstig, z. B. für B. Schüzenbachi und B. curvum bei gleichzeitiger Anwendung von 6 Proz. Stärkesirup. Letztere Kohlenstoffnahrung wird, wenn auch in viel geringerer Menge, in der Versuchsessigfabrik und vielen anderen Essigfabriken mit gutem Erfolg benutzt. Peptonstickstoff ist jedenfalls viel günstiger und besonders

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dann, wenn gleichzeitig reichlich Zucker zugegen ist. Die Anwesenheit von einer gewissen Menge Alkohol beeinflußt das Wachstum auffallend günstig.

Die Essigmaische der Versuchsessigfabrik (Schnellessigverfahren) enthielt etwa 5,2 Proz. Essigsäure und 7,1 Volumenproz. Alkohol, Stärkesirup und anorganische Salze. Es ließ sich nun feststellen, daß ein Zusatz von Pepton und Dextrose zu dieser Flüssigkeit wesentlich günstigere Entwickelung der Bakterien bewirkte. Die vorhandene Säure wurde für diese Laboratoriumsversuche vorher durch Abdampfen entfernt, da sie, wie weiter unten noch auseinandergesetzt werden soll, außerordentlich das Wachstum stört oder sogar verhindert. Der Befund ist von praktischem Interesse. Es wird nämlich in den Schnellessigfabriken den arbeitenden Essigbildnern vielfach nur anorganischer Stickstoff zugeführt und es werden dabei sehr günstige Erfolge erzielt. Die Laboratoriumsversuche scheinen also damit in Widerspruch zu stehen. Man muß jedoch bedenken, daß die Bildner bei der Einsäuerung zunächst fast regelmäßig organischen Stickstoff, wie Bier, Würze, Hefeabkochung, Malzauszug u. s. w. erhalten und später erst, wenn sie gut arbeiten, Ammoniaksalze. Offenbar müssen erst die Bakterien sich üppig vermehrt haben. Ferner wird bei jeder Betriebsstörung Bier oder Hefeabkochung oder dergl. in die nicht oder träge arbeitenden Bildner gegossen. Sicher halten die Buchenholzspäne lange Zeit diese Nährstoffe zurück. Ebenso dienen wohl sicher die Umsetzungsstoffe der Bakterien, wie auch die Stoffe der toten Bakterien, der Essigaale, Fliegenlarven und Milben den Essigbakterien zur Nahrung. Schließlich enthalten die Späne eine Menge von organischem Stickstoff, so daß von einer absolut anorganischen Stickstoffnahrung der Schnellessigbakterien in der Praxis meist keine Rede sein kann. Tatsache ist aber jedenfalls, daß diese Bakterien trotz ihrer enormen Enzymtätigkeit sehr anspruchslos in ihrer Ernährung in der Praxis sein müssen. In manchen Fabriken wird nämlich nach Angabe überhaupt nur Leitungswasser ohne Nährsalzzusatz angewandt.

Viel günstiger als künstliche Nährlösungen sind, wie schon gesagt, die natürlichen, wie Bier, Würze, Getreidemaische und dergl.

Gehopfte Bierwürze ließ bisher nur B. curvum und B. vini acetati aufkommen.

In unverdünnter Essigmaische wuchs in Laboratoriumsversuchen nur das B. Schüzenbachi und auch dies nur in geringem Grade.

Unverdünnte Weinessigmaische war für die Weinessigbakterien (B. xylinoides, B. vini acetati, B. orleanense) unter gewissen Bedingungen (siehe unten) günstig.

In unverdünntem Weißwein fand merkwürdigerweise erst nach Abstumpfen der Säure eine Entwickelung statt.

Hefewasser mit Zuckerzusatz ließ manchmal erst ziemlich spät eine Bakterienhaut entstehen.

An festen Nährsubstraten ist Würzegelatine, Würzeagar und Biergelatine für alle Arten günstig. Fleischsaftgelatine gestattet nur mäßiges Wachstum. Gehopfter Würzeagar ließ auch eine Entwickelung dieser Bakterien zu.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

## 2. Verhalten gegen verschiedene Zucker- und Alkoholarten.

Die Versuche wurden mit Hefewasser, das je 2 Proz. der betreffenden Zucker- und Alkoholarten enthielt, vorgenommen. In manchen Fällen entwickelten sich die Bakterien erst nach wiederholter Einimpfung.

Sämtliche 6 Bakterienarten säuern Arabinose, Dextrose, Erythrit, Glycerin und Propylalkohol.

Sämtliche säuern, mit Ausnahme des B. curvum (bisher!), Galaktose.

Sämtliche säuern, mit Ausnahme des B. curvum und B. xylinum, Malzzucker.

Von den 6 Arten säuern B. curvum, B. orleanense, B. xylinum und B. vini acetati Raffinose.

B. xylinoides und B. xylinum säuert nicht Dextrin, sonst sämtliche. Lävulose wird nur von B. Schüzenbachi und B. vini acetati, Rohrzucker nur von B. xylinoides, B. xylinum und B. vini acetati, Milchzucker nur von B. Schüzenbachi und B. orleanense und schließlich Mannit nur von B. orleanense und B. vini acetati gesäuert.

Eine üppige Bakterienentwickelung ohne Säuerung fand bei B. xylinum, B. curvum und B. xylinoides in Milchzuckerlösungen statt.

Was den Grad der Säuerung betrifft, so mag folgende Tabelle an dieser Stelle mitgeteilt sein: 0 bedeutet keine, (+) eine sehr geringe, + eine deutliche, ++ eine stärkere und +++ eine sehr starke Säuerung.

| | B. Schüzenbachi | B. curvum | B. orleanense | B. xylinoides | B. xylinum | B. vini acetati |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Arabinose | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Dextrose | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ |
| Lävulose | ++ | (+) | (+) | (+) | (+) | +++ |
| Galaktose | + | (+) | + | + | + | +++ |
| Rohrzucker | (+) | 0 | (+) | + | +++ | + |
| Malzzucker | + | 0 | + | + | 0 | ++ |
| Milchzucker | ++ | 0 | ++ | (+) | 0 | 0 |
| Raffinose | (+) | ++ | + | (+) | + | +++ |
| Dextrin | ++ | +++ | +++ | (+) | 0 | ++ |
| Propylalkohol | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Glycerin | +++ | + | +++ | ++ | + | +++ |
| Erythrit | + | ++ | + | ++ | + | + |
| Mannit | 0 | (+) | + | (+) | (+) | + |

In einigen Versuchen verschwand durch Weiteroxydation allmählich die Säure wieder, z. B. bei B. xylinoides und B. xylinum in der Dextroselösung und bei letzterer Art auch in Rohrzucker- und Glycerinlösung. Je nach der Zeit der Titration können daher die Ergebnisse verschieden ausfallen, weshalb die negativen Ergebnisse nochmals nachzuprüfen sind.

## 3. Verhalten gegen verschiedene Essigsäuremengen.

Da die Essigbakterien bekanntlich auffallend empfindlich sind, wenn sie in angesäuerte Flüssigkeiten eingeimpft werden, und da andererseits die Praxis ihre Maischen zur Verhütung einer Kahmhefeinfektion stark anzusäuern pflegt, waren Versuche erwünscht, bis zu welchem Grade die Flüssigkeiten, ohne die Entwickelung der Bakterien zu hemmen, angesäuert werden dürfen.

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. xylinoides wurde z. B. in eine Flüssigkeit bestehend aus 1 Teil Weinessigmaische, $1^1/_2$ Teilen mit Wasser verdünnter Bierwürze, 2 Proz. Alkohol und steigenden Mengen Essigsäure eingeimpft. Das Ergebnis war:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 0—1,5 Proz. Essigsäure (inkl.) | Entwickelung am | 3. | Tage |
| 2 „ „ „ | „ „ | 4. | „ |
| 2,5 „ „ „ | „ „ | 5. | „ |
| 3—3,5 „ „ „ | „ „ | 18. | „ |

Da bei größeren Essigsäuremengen keine Entwickelung bis zum 35. Tage eintrat, wurden diese an diesem Tage von neuem aus dem Kulturgefäß mit 3 Proz. Essigsäure geimpft. Das Ergebnis gestaltete sich jetzt folgendermaßen:

| | |
|---|---|
| 4—5,5 Proz. | Entwickelung am 13. Tage |
| 6 „ | keine Entwickelung. |

Wiederum neu geimpft aus 5,5 Proz. zeigte sich auch hier nach weiteren 16 Tagen Entwickelung.

Dieser Versuch, der als Beispiel von vielen anderen hier genügen mag, zeigt zugleich, wie eine allmähliche Gewöhnung an Essigsäure stattfindet. Oftmals mußten auf diese Weise die Bakterien vor ihrer Anwendung vorbehandelt werden. Betreffs des Verhaltens in Weinessigmaische sei noch folgender Versuch hier kurz angeführt:

Weinessigmaische mit 4 Proz. Essigsäure zeigte, mit B. vini acetati geimpft, am 3. Tage keine, am 5. Tage eine mäßige und erst am 7. Tage eine gute Entwickelung. Bereits am 12. Tage waren 8,1 Proz. Essigsäure vorhanden. Dieselbe Weinessigmaische mit Natronlauge bis auf 3,4 Proz. abgestumpft, hatte bereits am 3. Tage eine Entwickelung und am 5. Tage eine sehr gute Bakterienhaut aufzuweisen.

Das B. xylinum wuchs bisher in unverdünnten Weinessigmaischen überhaupt nicht.

Die Praxis macht jedenfalls durch zu starkes Ansäuern einen großen Fehler, da die Entwickelung der Essigbakterienhaut ganz unnötigerweise verlangsamt wird.

### 4. Verhalten gegen verschiedene Alkoholmengen.

Die Versuchsflüssigkeit, wie oben aus Weinessigmaische und Würze mit verschiedenen Alkoholmengen bestehend, wurde mit B. xylinoides geimpft:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 0—2 Proz. Alkohol (inkl.) | Entwickelung am | 5. | Tage |
| 3—5 „ „ „ | „ „ | 32. | „ |
| 6—8 „ „ „ | „ „ | 45. | „ |

An diesem Tage wurden die Maischen mit 9—10 Proz. Alkohol aus dem Kulturgefäß mit 8 Proz. neu geimpft. Nach weiteren 5 Tagen waren die Bakterien hier ebenfalls gewachsen.

Ein ähnliches Ergebnis zeigten auch Versuche mit B. curvum und B. orleanense. Je weniger Alkohol vorhanden ist, desto schneller entwickeln sich die Bakterien. 10 Proz. Alkohol scheint die größte Menge zu sein, die von diesen Bakterienarten ertragen wird.

### 5. Säuerungsversuche.

Diese Versuche wurden mit einer aus der Praxis stammenden Weinessigmaische (4 Proz. Essigsäure, 6 Proz. Alkohol) angestellt. Es fanden



Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

sowohl Laboratoriumsversuche mit kleinen Mengen, wie Fabrikversuche mit großen Mengen (60 l) nach dem Orleansverfahren statt.

Die größten Säuremengen für B. xylinoides waren unter diesen Bedingungen bisher 9,3 Proz., für B. orleanense 9 Proz. und für B. vini acetati 8 Proz.

Das Schnellessigbakterium B. Schüzenbachi säuerte in großen Doppelschalen in Fabrikessigmaische mit einem geringen Getreidemaischezusatz bis 10,9 Proz.

Die Säure wird bei geringen Essigsäuremengen sehr bald, bei sehr hohen nicht weiter oxydiert, offenbar weil in letzterem Falle die Bakterien sehr gelitten haben. Es mag bemerkt sein, daß der von B. xylinoides und B. orleanense gebildete Weinessig schön aromatisch (Ester) und vollständig blank war. Diese beiden Arten wurden daher einstweilen zur Versendung an die Praxis bestimmt.

In Flaschen mit beschränktem Luftzutritt (bei Wattestopfenverschluß) entstanden bei B. xylinoides große Mengen Aldehyd.

### 6. Einfluß des Alters und der Art der Ausgangskulturen auf die Weiterentwickelung, besonders in Weinessigmaischen.

Diese Untersuchungen beanspruchen besonders praktisches Interesse. Bekanntlich versendet das Institut für Gärungsgewerbe die vom Verf. hergestellten Reinkulturen an die Weinessigfabriken, so daß die Wachstumsbedingungen für die auf Agar oder Weinessigmaische zur Versendung kommenden Kulturen bekannt sein müssen.

Kulturen auf Würzeagar oder Würzegelatine entwickeln sich nicht, wenn sie unmittelbar in unverdünnte Weinessigmaischen eingeimpft werden. Die pasteurisierte Weinessigmaische muß daher vorher mindestens mit gleichen Teilen sterilisierten Wassers verdünnt werden. Die hier entstandene Haut kann dann nach einigen Tagen in die unverdünnte Weinessigmaische übertragen werden.

Bei den Uebertragungen aus Flüssigkeiten (z. B. Weinessigmaische) ließ sich folgendes feststellen:

Aeltere oder sehr alte Kulturen in Weinessigmaische zeigen nach der Uebertragung in unverdünnte Weinessigmaische kein Wachstum. Je konzentrierter die Ausgangsweinessigmaische war, desto älter darf sie im allgemeinen sein (ca. 22—27 Tage), um noch mit Erfolg als Impfmaterial angewandt zu werden. Offenbar liegt dies daran, daß in stark verdünnten Weinessigmaischen die Bakterien nach Verbrauch des Alkohols verhältnismäßig schnell (nach ca. 20 Tagen) verhungern oder degenerieren.

Die in Weinessigmaischen zur Versendung kommenden Kulturen bringt man daher zweckmäßig zunächst in verdünnte und erst später, wenn sie hier angewachsen sind, durch Hautübertragungen in unverdünnte Weinessigmaische.

### 7. Laboratoriumsversuche mit Reinkulturschnellessigbildnern.

Die Versuchseinrichtung war im wesentlichen den Verhältnissen in der Praxis entsprechend. Die Bildner, bestehend aus langen Glasröhren (115:5 cm), waren mit frischen Buchenholzspänen und Holzwolle dicht angefüllt. Das Sterilisieren geschah durch Auskochen, dann

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tagelanges Stehenlassen der Späne und der Holzwolle unter 50 Proz. Alkohol, der schließlich durch Ausspülen mit sterilisiertem Wasser wieder entfernt wurde. Alle Gummischläuche waren vorschriftsmäßig durch längeres Auskochen in 1-proz. Sodalösung keimfrei gemacht. Die Einrichtung war so getroffen, daß das pasteurisierte Essiggut tropfenweise oben in die Röhren gelangte, durch die Späne rieselte, dann unten in eine sterile Wulfsche Flasche floß, um von Zeit zu Zeit durch Luftdruck wieder in das obenstehende Essiggutgefäß zurückgebracht zu werden. Von hier aus nahm das Essiggut wieder den oben beschriebenen Weg. Die Luft, welche beständig durch die Bildner geleitet wurde, war durch Wattefilter keimfrei gemacht. Die Temperatur wurde durch ein Wasserbad auf 27—30° C gehalten. Alle Einrichtungen, wie Probeentnahme, Zufließenlassen von frischer Essigmaische und dergl. gestatteten ein durchaus sicheres steriles Arbeiten. Wie Kontrollversuche ergaben, waren die Bildner 14 Monate hindurch (Versuchsdauer) rein geblieben. In den ersten Versuchen wurde das Essiggut zweimal an jedem Tag tropfenweise durch die Bildner geschickt.

Es wurden nebeneinander B. Schüzenbachi (Bildner I) und B. orleanense (Bildner II) untersucht.

Von den ausführlich beschriebenen Versuchen mögen hier nur einige Ergebnisse mitgeteilt sein:

Die Säurezunahme begann bereits am 3. Tage. In 24 Stunden war im günstigsten Falle die Säurezunahme 0,4—0,5 Proz. Meistens war letztere aber geringer, was in Anbetracht der geringen Größe der Essigbildner nicht anders zu erwarten war. Die größte Säuremenge war bisher 9,1 Proz. im Bildner I und 9,3 Proz. im Bildner II. Sehr interessant war ferner, daß ein Wechsel in der Zusammensetzung der Flüssigkeit jedesmal eine beträchtliche Störung hervorrief, indem einige Tage die Essigbildung völlig aufhörte. Ein Zusatz von Pepton oder Pepton und Dextrose hatte keinen beschleunigenden Erfolg. Die Versuchsflüssigkeit bestand aus verdünnter Fabrikessigmaische mit Würze oder Bierzusatz, später nur aus reiner Fabrikessigmaische. Der Ablaufessig war völlig klar, sehr esterreich und von hervorragend gutem Geschmack.

### 8. Fabrikversuche mit Reinkulturschnellessigbakterien (B. Schüzenbachi).

Einer der großen Schnellessigbildner der Versuchsessigfabrik wurde ausgedämpft und mit 60 l pasteurisierter Essigmaische, der 2 l Reinkulturessig des B. Schüzenbachi zugesetzt waren, angesäuert. Aus diesem Versuch ging vor allem hervor, daß das B. Schüzenbachi sich unter den in der Praxis herrschenden Bedingungen gut zu entwickeln und hoch zu säuern vermag. Der Reinzuchtbildner war frei von Aalen, Essigmilben und Essigfliegen geblieben, obwohl die ihm benachbarten Bildner stark infiziert waren. Der Essig war völlig klar und schön bukettreich, so daß die Kostproben stets sehr günstig ausfielen. Die bisher größte Säuremenge war 11,5 Proz.

Von den aufgeführten Beobachtungen mag hier nach kurz folgendes berichtet sein: Bei Zusatz größerer Mengen Alkohol konnte erst am 3. Tage im Ablaufessig ein Erfolg beobachtet werden. Um eine alkoholhaltige Flüssigkeit bis zu den untersten Spänen im Bildner gelangen zu lassen, vergehen also unter diesen Bedingungen 2—3 Tage. Als



Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

höchste Temperatur kam 27,5° C (die Essigfabrik hatte zu dieser Zeit etwa 21° C) zur Beobachtung. Die Säurezunahme in 24 Stunden war etwa 0,1—0,3 Proz., mehr als 0,42 Proz. wurde niemals beobachtet, doch muß dabei bemerkt werden, daß der Alkoholzusatz oft nicht rechtzeitig erfolgte. Der Versuch sollte nämlich nur als Vorversuch für die weiteren Untersuchungen dienen. Inzwischen sind sämtliche Bildner der Versuchsfabrik mit Reinkultur angesäuert worden.

Die Praxis wird sich wohl zunächst kaum der Reinkulturen in der Schnellessigfabrik bedienen, da selbstverständlich die Fabrik erst längere Zeit ihren Betrieb wegen des Ausdämpfens der Bildner zum Abtöten der Aale u. s. w. unterbrechen müßte. Infolge der ungünstigen wirtschaftlichen Verhältnisse in der Gärungsessigindustrie wird man dies vermeiden wollen. Bei der Neueinrichtung einer Essigfabrik wird jedoch mit Reinzucht gearbeitet werden können. (Autoreferat.)

---

**[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgen. Polytechnikums in Zürich.]**

*Nachdruck verboten.*

# Intramolekulare Atmung, Anaërobiose und Mikroaërophilie.

Von Prof. Dr. **R. Burri.**

Gelegentlich gemachte Beabachtungen und aus der Literatur empfangene Anregungen haben mich schon vor Jahren dazu geführt, den in der Ueberschrift angedeuteten Fragen besondere Aufmerksamkeit zu schenken. Zu dem nach und nach gesammelten Tatsachenmaterial, das ich noch zu vervollständigen gedenke, sind in letzter Zeit die Ergebnisse zweier durch die Herren G. Köstler und J. Kürsteiner unter meiner Leitung ausgeführter, noch nicht publizierter Arbeiten hinzugekommen, die zur Aufhellung des fraglichen Gebietes wichtige Beiträge liefern und mir Veranlassung geben, im Sinne einer vorläufigen Mitteilung meine Anschauungen über das Wesen der Anaërobiose und verwandter Erscheinungen in knapper Form den Lesern dieses Blattes zu unterbreiten.

## Thesen.

1) Die bisher unentschieden gebliebene Frage, ob die sogenannten obligat anaëroben Bakterien in einer endlosen Reihe von Generationen sich entwickeln können, ohne daß sie je Gelegenheit haben, mit ungebundenem Sauerstoff in Berührung zu kommen, ist als gelöst zu betrachten. Die obligat Anaëroben haben den Sauerstoff nicht nötig. Die Fähigkeit der endlosen Entwickelung ohne Dazwischentreten freien Sauerstoffes muß sogar den fakultativ anaëroben Bakterien zugesprochen werden und zwar nicht nur jenem Typus, der ohnehin zu vorwiegend anaërober Lebensweise neigt (Milchsäurebakterien der Gärungsindustrie), sondern auch dem Typus, welcher durch Bact. coli repräsentiert wird und nach den übereinstimmenden Angaben der Literatur, sowie nach dem Augenschein bei vollem Luftzutritt besseres Gedeihen zeigt als bei Luftabschluß.

2) Wenn vegetative Formen obligat anaërober Bakterien dem Einfluß ungebundenen Sauerstoffes ausgesetzt werden, so kann man je nach dem Maße, in welchem der Sauerstoff zur Wirkung gelangt, eine Abtötung, eine bloße Entwickelungshemmung oder sogar eine Förderung des Wachstums der genannten Organismen beobachten. Es liegt keine

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Veranlassung vor, dieses Verhalten anders denn als Giftwirkung zu deuten. Im besonderen würde in der Förderung der Entwickelung anaërober Bakterien durch sehr geringe Sauerstoffmengen eine physiologische Gegenreaktion des Organismus im Sinne Pfeffers zu erblicken sein.

3) Wo im Zusammenhang mit Sauerstoffzutritt eine fördernde Wirkung auf Anaërobe festzustellen ist, kommen zur Erklärung des Wesens dieser Förderung hauptsächlich zwei Momente in Betracht. Der vom freien Sauerstoff ausgehende Reiz kann sich geltend machen in einer Anregung des gesamten Stoffwechsels und damit der diesen Organismen geläufigen Spaltungsatmung bezw. der Gärtätigkeit, oder der Sauerstoff wirkt dadurch, daß er direkt in den Stoffwechsel eingreift und so den Organismus veranlaßt, Sauerstoffatmung auszuüben. Aus dem bloßen Verschwinden von Sauerstoff aus Kulturen und Kulturräumen anaërober Bakterien ist nicht ohne weiteres zu schließen, daß der Sauerstoff veratmet worden ist, denn alle Kulturen solcher Organismen stellen lebhaft reduzierende Flüssigkeiten dar, die gebotene Sauerstoffaffinitäten begierig in Beschlag nehmen.

4) Soweit die gemachten Erfahrungen erkennen lassen, reagieren die typischen fakultativ Anaëroben auf Sauerstoffzutritt unmittelbar mit Sauerstoffatmung auf Sauerstoffentziehung sofort mit Spaltungsatmung. Bei geeigneter Versuchsanstellung (Schüttelkultur) läßt sich bei manchen Arten zeigen, daß der aërob atmende Teil der Kultur in einem gewissen Antagonismus steht zum anaërob atmenden Teil, indem beide nicht nur scharf begrenzt, sondern sogar durch eine Zwischenzone getrennt sind, in welcher weder für den einen noch für den anderen Teil genügende Entwickelungsbedingungen herrschen. In jener Zone ist offenbar eine Sauerstoffspannung vorhanden, die für den aëroben Teil zu wenig, für den anaëroben zu viel dieses Elementes bietet.

5) Im Gegensatz zu den vorigen deuten die Erscheinungen, welche bei obligat Anaëroben zu beobachten sind, mehr darauf hin, daß der Organismus auf den vom Sauerstoff ausgeübten Reiz mit einer Verstärkung der Spaltungsatmung antwortet. Doch sind unter Umständen Kulturbilder zu beobachten, welche es wahrscheinlich machen, daß auch bei obligat Anaëroben der vom Sauerstoff ausgehende Reiz zur Sauerstoffatmung führen kann, und die Tatsache, daß von einzelnen obligat anaëroben Sporenbildnern aërobe Rassen erhalten worden sind, scheint ohne weiteres dafür zu sprechen, daß in diesen Organismen die Fähigkeit zur Sauerstoffatmung wenigstens als Anlage enthalten ist. Immerhin wäre bei den in jüngster Zeit sich mehrenden Angaben über gelungene Ueberführung obligat anaërober Bakterienarten in aërobe Rassen in jedem einzelnen Fall zu untersuchen, ob bei den letzteren wirklich ein Verbrauch von Sauerstoff im gleichen Sinne wie bei den von Natur aus aëroben Arten vorliegt oder ob man es mit Anaëroben zu tun hat, welche teils durch Giftgewöhnung, teils infolge einer bei solchen Umzüchtungsversuchen sicherlich eine große Rolle spielenden Auslese in einen Zustand übergegangen sind, der insofern eine Aërobiose vortäuschen kann, als der Tötungs- bezw. Hemmungszweck für das Gift Sauerstoff eine extrem starke Verschiebung nach oben erlitten hat.

6) Die von Beijerinck geforderte und von Alfred Fischer und anderen angenommene Einteilung der Organismen in aërophile und mikroaërophile deckt sich nicht mit der Wirklichkeit. Insbesondere trägt die Bezeichnung mikroaërophil der Tatsache nicht Rechnung, daß die betreffenden Organismen ihre normale Entwickelung

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in ungezählten Generationen ohne Verwendung freien Sauerstoffs durchlaufen können. Eine derartige Unabhängigkeit von der Sauerstoffatmung läßt sich sogar für jene fakultativ anaëroben Bakterien nachweisen, welche wie das Bact. coli von Beijerinck zu den aërophilen gerechnet werden. Nicht der Umstand, ob ein Organismus bei vollem oder nur bei sehr beschränktem Sauerstoffgenuß sich entwickeln kann, kennzeichnet sein Verhältnis zu diesem Elemente, vielmehr ist es die Frage nach der Notwendigkeit, Entbehrlichkeit oder Schädlichkeit des letzteren, welche den Kern der Sache treffen dürfte. In diesem Sinne müssen aber die üblichen Ausdrücke obligat aërob, fakultativ anaërob und obligat anaërob als durchaus zweckmäßig bezeichnet werden. Wenn die obligat Anaëroben bei minimaler Sauerstoffspannung noch gedeihen können und sogar gegenüber der Züchtung unter absolutem Ausschluß des Sauerstoffes eine Förderung des Wachstums erkennen lassen, so läßt sich diese Erscheinung, wie schon in These 2 hervorgehoben ist, zwanglos auf die anregende Wirkung kleiner Giftmengen zurückzuführen und der Wachstumssteigerung an die Seite stellen, welche bei verschiedenen Pilzen bei Züchtung in Gegenwart von Quecksilber-, Zink- und Kupfersalzen von sehr schwacher Konzentration erzielt worden ist.

7) Die Bedeutung der anaëroben Lebensweise ist nicht nur in dem Vermögen des Organismus zu erblicken, bei mangelndem Sauerstoff sich durch Auslösung exothermischer Reaktionen die zum Leben notwendige Betriebsenergie zu verschaffen, sondern auch in dessen Bestreben und der Notwendigkeit, sich den zum Aufbau des Zellleibes nötigen Sauerstoff aus chemischen Verbindungen anzueignen. Das letztere Moment, das seinerzeit von Pasteur zuerst als eigentliche Ursache des Zerfalls des Zuckermoleküls unter dem Einfluß des dem Luftzutritt entzogenen Hefepilzes angesehen wurde, ist später bei den von verschiedener Seite angestellten Versuchen und Betrachtungen über das Wesen der Gärung in den Hintergrund getreten, nachdem man erkannt hatte, daß Hefe auch bei Luftzutritt Gärtätigkeit entfaltet und sich ohne Luftzutritt überhaupt nicht unbegrenzt vermehren kann. Man hat aber mit Unrecht immer und immer wieder von den Verhältnissen bei der Hefe auf die Verhältnisse bei den Bakterien geschlossen und bis in die neueste Zeit die tiefgreifenden Unterschiede verkannt, welche die beiden Organismenklassen trennen.

8) Die zuckervergärenden Hefen schließen sich in ihrem Verhalten bei Entzug des Sauerstoffes den höheren Pilzen wie den grünen Pflanzen an, d. h. sie sind im stande, bei fehlender Sauerstoffatmung ihr Leben noch eine Zeitlang zu fristen, indem sie sich mit Hilfe der intramolekularen Atmung die notwendige Betriebsenergie verschaffen. Daß es sich hierbei der Hauptsache nach um der alkoholischen Gärung entsprechende Spaltungsvorgänge handelt, dürfte durch zahlreiche Untersuchungen aus älterer und jüngerer Zeit sichergestellt sein. Durch die Buchnersche Entdeckung der Zymase ist ein weiteres Licht auf diese Verhältnisse geworfen worden. Einmal erklärt sich das ungleiche Verhalten verschiedener Pflanzengruppen ungezwungen durch die in einzelnen Gruppen sehr verschieden ausgebildete Befähigung zur Produktion der spezifischen Enzyme; sodann darf aus der Tatsache, daß die Hefe, um in einer großen Reihe von Generationen Gärtätigkeit entfalten zu können, eine von Zeit zu Zeit erfolgende Verproviantierung mit Sauerstoff verlangt, geschlossen werden, daß das Enzym der Alkoholgärung nur dann als Stoffwechselprodukt der Hefe auftritt, wenn diese normale Sauerstoff-

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

atmung betreibt. Daher das eigentümliche Verhalten der Hefe, das Beijerinck als temporäre Anaërobiose bezeichnet hat. Im Grunde ist die Hefe ein obligat aërobes Wesen, das auf Grund seiner reichlichen Enzymproduktion einer ungewöhnlich ausgiebigen intramolekularen Atmung fähig ist, die eine wirkliche Anaërobiose vortäuschen kann.

9) Wo fakultativ und obligat anaërobe Bakterien in zahlreichen Generationen sich bei völliger Abwesenheit freien Sauerstoffes entwickeln, müssen notwendigerweise die im Dienste der Spaltungsatmung stehenden Enzyme auf Grund eines anaëroben Stoffwechsels der betreffenden Organismen entstehen, und hierin liegt ein prinzipieller Unterschied gegenüber der Hefe. Zymase bezw. Alkoholase entsteht nur auf Grund eines Stoffwechsels, der mit Beteiligung freien Sauerstoffes sich abspielt. Die Spaltungsenzyme der echten fakultativ und obligat anaëroben Bakterien werden weder unter direkter noch unter indirekter Mitwirkung freien Sauerstoffes produziert.

10) Unter Berücksichtigung des hervorgehobenen prinzipiellen Unterschiedes erscheint die Frage des genetischen Zusammenhanges zwischen Sauerstoffatmung der Aëroben, intramolekularer Atmung der Hefe und Spaltungsatmung der Bakterien nicht ohne weiteres im Sinne der von Pfeffer in seinem Lehrbuch vertretenen Anschauung beantwortet werden zu können. Wohl dürfte kein Zweifel darüber bestehen, daß Sauerstoffatmung und intramolekulare Atmung der Aëroben, also auch der Hefe, auf denselben Ursachen beruhen. Für die Ansicht aber, daß die dauernd anaërobe Atmung die Gärtätigkeit phylogenetisch durch Erweiterung und Spezialisierung der intramolekularen Atmung entstanden ist, bilden die bisher bekannt gewordenen Erfahrungen keine genügende Stütze. Die der Pfefferschen Hypothese im Wege stehende Kluft zwischen aërober und dauernd anaërober Lebensweise ist einer Annahme weniger hinderlich, welche als ursprünglichen Typus den wirklich (nicht temporär) fakultativ anaëroben aufstellt, aus dem sich durch einseitige Betätigung der Sauerstoffatmung der obligat aërobe, durch einseitige Betätigung der Spaltungsatmung der obligat anaërobe entwickelt hat. Daß der obligat aërobe Typus bei Sauerstoffentzug nur mit Hilfe von bei Sauerstoffzutritt gebildeten Enzymen den Betriebsstoffwechsel unterhalten kann, soweit deren Vorrat und Wirksamkeit reicht, ist dann selbstverständlich, wie andererseits der obligat anaërobe Typus von vorneherein dazu geschaffen erscheint, den Sauerstoff, den er zur Produktion der für ihn so wichtigen Spaltungsenzyme nicht nötig hat, für immer entbehren zu können.

Zürich, im November 1906.

---

**Schweizerische milchwirtschaftl. Versuchsanstalt Liebefeld b. Bern.**

*Nachdruck verboten.*

# Ueber den Einfluss des Salzens auf die im Emmentalerkäse stattfindende Lochbildung.

Von Dr. **Orla Jensen,**

Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt.

Es ist dem erfahrenen Schweizerkäser bekannt, daß man durch das Salzen die Lochbildung der Emmentalerkäse beeinflussen kann, und er salzt deshalb solche Käse, die in der Heizung nicht „arbeiten“ wollen, meistens nicht in der Mitte, sondern nur bis etwa 10 cm von den Rändern weg. Eine sehr deutliche Bestätigung obiger Erfahrung erhielt ich da-

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch, daß ich während einer Zeit, wo die in unserer Versuchskäserei hergestellten Emmentalerkäse nur wenig „Loch" ansetzten, einen Käse zu salzen vollständig unterließ. Derselbe unterschied sich schon äußerlich von allen anderen Käsen durch seine schwachgewölbten Flächen, und beim Anschneiden zeigte er schöne, 2 cm große Löcher. In Uebereinstimmung mit der von v. Freudenreich und mir [1]) bewiesenen Tatsache, daß die normale Lochbildung der Emmentalerkäse eine Begleiterscheinung der in dieser Käsesorte stattfindenden Propion-Essigsäuregärung ist, war die Destillationszahl [2]) des großgelochten ungesalzenen Käses 87, während sie bei dem 1 Tag später in gleicher Weise hergestellten, nur erbsengroße Löcher enthaltenen, gesalzenen Kontrollkäse bloß 28 betrug. Bezüglich des Reifungsgrades zeigten diese zwei Käse keine nennenswerten Unterschiede. Der Geschmack des ungesalzenen Käses war natürlicherweise sehr fade.

Um festzustellen, ob die hemmende Wirkung des Salzens lediglich in dem dadurch verursachten Herausdiffundieren von gärfähigem Material (Laktaten) liegt, oder ob auch das Salz an und für sich auf die Tätigkeit der Propionsäurebakterien störend einwirkt, wurden mehrere Flaschen Kalklaktat-Peptonbouillon mit verschiedenen Mengen von reinem Chlornatrium versetzt, sterilisiert und mit je 1 ccm Kultur unserer drei verschiedenen Propionsäurebakterien geimpft. Da es nicht gleichgültig sein kann, ob das Kochsalz bei saurer oder neutraler Reaktion zur Wirkung kommt, und da die im Emmentalerkäse zur Zeit der Lochbildung befindliche Flüssigkeit noch ziemlich sauer reagiert, so verwendete ich für die Versuche schwach saure Bouillon. Das Resultat dieses Versuches war höchst interessant, denn bereits $^1/_2$ Proz. Kochsalz, eine Menge, die man meistens als nützlich für die Bakterienentwickelung erachtet, übte einen hemmenden Einfluß auf die Propionsäuregärung aus. Mit 2,5 Proz. Kochsalz trat fast keine Gärung mehr auf und das Bakterienwachstum war sehr schwach. Letzteres hörte jedoch erst mit 10 Proz. Chlornatrium vollständig auf. Die folgende Tabelle gibt die Destillationszahlen der 1 Monat bei 30° aufgestellten Kulturen an.

| Proz. NaCl der Bouillon | 0 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 | 7,5 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Destillationszahl | 91 | 26 | 10 | 3 | 2,5 | 0,5 | 0 |

Da die gefundenen Destillationszahlen überhaupt niedrig sind, muß man annehmen, daß unsere Kulturen durch anhaltendes Züchten auf festem Nährboden bereits einen Teil ihres Gärvermögens eingebüßt hatten. Durch diesen Umstand verlieren indessen die obigen Zahlen nicht ihren relativen Wert [3]), höchstens kann dadurch die schädliche Wirkung des Kochsalzes einen etwas stärkeren Ausschlag gegeben haben als unter normalen Verhältnissen.

Die hemmende Wirkung einer geringen Menge Kochsalz auf die Propionsäuregärung scheint um so merkwürdiger, weil diese Gärung, wie frühere Versuche gezeigt haben, in Nährlösungen, die 8 Proz. Kalksalze (Laktate, Propionate und Acetate) enthalten, noch immer stattfindet. Sie ist indessen leicht zu verstehen, wenn man bedenkt, daß eine mit Kalklaktat und Chlornatrium versetzte Lösung auch das für die Pflanzen be-

1) Dieses Centralblatt. Bd. XVII. p. 529.

2) Die Destillationszahl drückt die Menge der in 100 g Käse vorhandenen flüchtigen Säuren in ccm $\frac{n}{10}$-Lauge aus.

3) Da Gärungsversuche im kleinen meistens ganz anders ausfallen als im großen, so können sie überhaupt nur relativen Wert besitzen.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reits in geringerer Konzentration giftig wirkende Chlorcalcium enthalten muß und zwar in um so größeren Mengen, je mehr Chlornatrium zugesetzt wird. Die Giftigkeit des Chlorcalciums dürfte wohl seiner eiweißfällenden (z. B. kasein- und parakaseinfällenden) Eigenschaft zuzuschreiben sein.

Die große Empfindlichkeit der Propionsäurebakterien gegenüber Kochsalz bei Gegenwart der im Käse stets vorhandenen löslichen Kalksalze erklärt, warum das langsame Trockensalzen von außen in der Emmentalerkäsefabrikation vorgezogen wird, denn würde man mittelst schneller wirkender Methoden den Emmentalerkäsen bereits in den ersten Wochen nach der Herstellung alles Salz einverleiben, so würde man die Lochbildung unterdrücken. Sie erklärt ferner, warum die Emmentalerkäse normalerweise keine Löcher in den salzreicheren äußeren Schichten [1]) aufweisen und warum die großen Emmentalerkäse meistens schöner gelocht werden als die kleineren, die vom Salz viel zu schnell durchdrungen werden. Will man in kleinen Emmentalerkäsen eine schöne Lochbildung erzielen, so darf man sie während der ersten Zeit fast nicht salzen.

Da kleine Emmentalerkäse ferner auf der Presse zu rasch abkühlen, was die genügende Entwickelung des nur bei höherer Temperatur wachsenden Reifungserregers, Bacillus casei ε [2]), hindert, und da sie im Keller leicht austrocknen, so ist bei der Herstellung solcher Käse auch für eine wärmere Käseküche und für nicht zu trockene Keller zu sorgen.

## Referate.

**de Astis, G.**, Esperienze di vinificazione in Barletta (Apulien). (Bull. d. Ministero di Agricultura. Serie II. Anno IV [1905]. Vol. V. p. 31—72.)

Durch Weinsäurezusatz wird säurearmer Weißwein kaum besser. Bei Rotweinen erreicht man durch Bisulfitanwendung (20 g pro hl) gute Resultate. Der Wein gewinnt an Farbe, Klarheit, Alkohol, Säure, Extrakt und Glycerin. Beinahe dieselben Vorteile erzielt man durch frühzeitigen Abstich, wenn die Gärungstemperatur nicht allzuhoch gestiegen war. Pantanelli (Rom).

**de Feo, A.**, Su la composizione dei vini fosfatati. (Giornale di Viticultura ed Enologia. 3. Vol. XIV. 1906. p. 261—265.)

Unter Calciumbiphosphatzusatz hergestellte Weine sind durchaus gut und besitzen mehr Farbe, Bouquet, Extrakt, Asche, Phosphorsäure, weniger Kalk als die Kontrolle. Das Phosphatieren bewirkt eine rasche Klärung des gärenden Weines und ist unter allen Umständen dem Gipsen vorzuziehen. Pantanelli (Rom).

**Funaro, A.** e **Rastelli, A.**, Su lo stato di combinazione organica del fosforo nei vini. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXIX. 1906. p. 35—37.)

Nach der Veröffentlichung von Funaro und Barboni (dieses Centralblatt) sind mehrere Arbeiten über den Gegenstand erschienen. Die Verff. stellen nun die Frage, ob alles, was man als Lecithin ange-

1) In meiner Arbeit „Studien über die Enzyme im Käse" (dieses Centralbl. Bd. VI. p. 833) habe ich gezeigt, daß die innere Masse des Emmentalerkäses bedeutend salzärmer als die äußere Schicht ist.

2) Vergl. meine Arbeiten „Ueber den Einfluß des Fettgehaltes der Milch auf die Emmentalerkäse" und „Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Milchsäuregärung". (Das landwirtschaftliche Jahrbuch der Schweiz.)

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

geben hat, wirkliches Lecithin darstellt. Sie trachteten, Lecithin, Cholin und Glycerophosphorsäure nach den Methoden rein darzustellen, die Schulze und dessen Mitarbeiter ausgebildet haben, und kamen dabei zu folgenden Ergebnissen: Lecithin ist in Weintrauben bereits nach dem Samenansatz vorhanden, zersetzt sich aber teilweise bei der Gärung und bleibt zum Teil im Bodensatze zurück. In wenig alkoholreiche Flüssigkeiten geht kein Lecithin über. Bei der Zersetzung bilden sich Cholin und, zumal bei Glycerinanwesenheit, wasserlösliche Glycerophosphate. In natürlichen Weinen kann kein Lecithin oder höchstens nur Spuren davon vorhanden sein; wohl aber sind Glycerophosphate und Cholin im Weine immer enthalten und es rührt vom Glycerophosphat die bisher als Lecithin bezeichnete alkohollösliche Phosphorsäure her.

Pantanelli (Rom).

**Montoneri, C.** e **de Feo, A.,** Intorno alla lecitina dei vini. (Bull. d. Ministero di Agricultura. Serie II. Anno IV [1905]. Vol. V. p. 124—128.)

Lecithin (alkohollösliche Phosphorsäure) kommt in allen Weinen vor und erteilt denselben Nahrhaftigkeit und Kraft. Es herrschen keine Beziehungen zwischen Lecithin und Farbe, Glycerin, Alkohol, totalem Phosphorgehalte, Gipsen, Alter, Phosphatieren. Das letztgenannte Verfahren läßt nur den totalen Phosphorgehalt und die wasserlösliche Phosphorsäure zunehmen. Pantanelli (Rom).

**Pagnotta, D.,** La lecitina nei vini. (Bull. d. Ministero di Agric. Serie II. Anno IV [1905]. Vol. IV. p. 674—678.)

Sämtliche Weine enthalten Lecithin (alkohollösliche Phosphorsäure). Dieses nimmt mit dem totalen Phosphorgehalte und Farbenreichtum des Weines, sowie bei längerem Stehen des Weines auf den Trebern zu. Der leichtflüssige Most enthält mehr Zucker, der Saft aus dem peripherischen Gewebe der Weinbeere mehr Extrakt und Phosphor. Phosphate nehmen im Moste bei der Gärung ab, weil die Hefe Phosphorsäure zu Ernährungszwecken verbraucht; bei längerem Stehen wird aber Lecithin aus den Trebern, insbesondere aus den Weinkernen, ausgezogen. Das Pasteurisieren des Mostes und der Treber läßt den totalen Phosphorgehalt und das Lecithin abnehmen; dagegen hat das Pasteurisieren des Weines einen geringfügigen Einfluß auf den Lecithingehalt. Bei der Gärung zuckerreicher Moste bezw. alkoholreicher Weine wird mehr Lecithin aus den Hüllen und Kernen herausgezogen. Pantanelli (Rom).

**Maddalozzo, Cr.,** Su la ricerca della lecitina. (Bull. d. Ministero di Agricultura. Serie II. Anno V [1906]. Vol. II. p. 827—832.)

Weintrauben aus Apulien enthalten Lecithin (alkohollösliche Phosphorsäure) im Safte und in den Hüllen, außer in den Kernen. Im Weine schwankt es von 215 bis 349 mg im Liter. Besserer Verschnittwein enthält mehr Lecithin. Dieses steht zum Gehalt an Zucker, Alkohol, Glycerin in keiner Beziehung. Pantanelli (Rom).

**Martinotti, F.** e **Levi, A.,** Su la ricerca dei nitrati nel vino in rapporto a l'annacquamento. (La Rivista [di Viticultura ed Enologia]. 4. Vol. XII. 1906. p. 313—318.)

Die Verff. bedienen sich eines Apparates eigener Konstruktion, um das nach Schulze-Tiemanns Methode aus Wein verjagte Stickstoffoxyd der Nitrate zu Salpetersäure wieder zu oxydieren und in einer Reihe von Reagenzgläsern mit Diphenylamin und Schwefelsäure fraktioniert

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufzunehmen. Nach diesem Verfahren gelingt es den Verff., 0,0005 g $NO_2$ im Liter nachzuweisen. Natürliche Weine enthalten keine Nitrate, wohl aber das Verdünnungswasser; nach dieser Methode ist aber ein Wasserzusatz um 5 Proz. bereits deutlich zu erkennen. Pantanelli (Rom).

**Machida,** On the influence of calcium and magnesium salts on certain bacterial actions. (Bull. of the imp. central agr. exper. stat. Japan. Vol. I. Part 1. p. 1.)

In mehreren Versuchsreihen sucht Verf. den Einfluß verschiedener Calcium- und Magnesiumsalze auf die Lebenstätigkeit einiger Bakterien zu klären. Jeder Versuch war doppelt angestellt.

In der 1. Versuchsreihe wurde Urin mit je 0,3 Proz. Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, Natriumchlorid und Monokaliumphosphat versetzt und nach 5, 10, 20 und 25 Tagen der gebildete Ammoniakstickstoff bestimmt.

Die Umsetzung des Harnstoffs in Ammoniak war mit Ausnahme der calciumchloridhaltigen Flüssigkeit nach 20 Tagen beendet und zwar zeichnete sich der mit Magnesiumchlorid versetzte Urin durch besonders starkes Bakterienwachstum aus, was deutlich an der Dunkelfärbung der Flüssigkeit zu erkennen war. Zu entsprechenden Resultaten führte ein Versuch mit 2-proz. Peptonlösung an Stelle des Urins, geimpft mit 3 ccm faulendem Urin.

Die 2. Versuchsreihe verglich den Einfluß von 0,5 Proz. $CaSO_4$ und äquivalenter Mengen von $MgSO_4$ und $Na_2SO_4$ auf die Zersetzung der obigen Peptonlösung bei gleicher Impfung. Hier steigerte das Magnesiumsulfat die Intensität des Bakterienwachstums ganz besonders in den ersten Tagen, während Gips sich als ziemlich indifferent erwies.

Ein Vergleich von Dinatriumphosphat und Tricalciumphosphat in Reinkulturen von B. fluorescens liquefaciens, Proteus vulgaris und B. mycoides ließ bei Anwesenheit von Magnesiumsulfat in 3 Wochen Differenzen in der Bildung von Ammoniak aus Asparagin nicht erkennen.

Besonderes Interesse beanspruchen die letzten beiden Versuchsreihen des Verf., da er sich dabei der Erde als Kulturmedium bediente.

Versuchsziel der einen Reihe war die Beantwortung der Frage, ob die in der 1. Versuchsreihe genannten Salze in der Konzentration von 0,3 Proz. des verwendeten Bodens die Denitrifikation günstig beeinflussen, wie es nach den obigen Erfahrungen nicht unwahrscheinlich war. Zum Boden wurden noch 10 Proz. gepulverter Oelkuchen gefügt. Das Resultat war ein durchaus negatives, es ließ sich sogar überall ein geringer Stickstoffgewinn konstatieren. Ob Zugabe virulenter Denitrifikationsmikroben nicht zu anderen Ergebnissen geführt hätte, läßt Verf. dahingestellt.

Ein Versuch über Nitrifikation in mit Gartenerde gemischtem Sand unter Zugabe von 1 g Calciumkarbonat oder aber Magnesiumkarbonat zu 1020 g Boden zeigte entschiedene Ueberlegenheit des Magnesiumsalzes. Nach 14 Tagen war bei Kalkzugabe mit Diphenylamin noch kein Nitrat nachweisbar, wohl aber starke Reaktion in dem mit Magnesiumkarbonat versetzten Boden. Nach 4 Wochen erst zeigte sich auch bei ersterem eine geringe Blaufärbung mit Diphenylamin.

Die Schlußsätze der anregenden Untersuchung mögen wörtlich hier Platz finden:

„1) Calciumsalze verzögern die Fäulnis in bestimmten Medien, Magnesiumsalze dagegen begünstigen die Fäulnis.

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Es ist eine interessante Tatsache, daß Tricalciumphosphat durch einige Fäulnisbakterien ausgenutzt werden kann, ein Beweis dafür, daß die unlöslichen Phosphate des Bodens in aufnehmbare Form übergehen können.

3) Magnesiumkarbonat begünstigt die Nitrifikation weit mehr als Calciumkarbonat, von welchem Umstand in manchen Fällen in der Praxis Gebrauch gemacht werden kann.“ Vageler (Königsberg).

**Stutzer,** Die Behandlung des Stalldüngers auf dem Hofe. (Fühlings landw. Ztg. 1906. p. 436.)

Verf. hebt die große Bedeutung der richtigen Pflege des Stalldüngers für Erhaltung seiner wertvollen Bestandteile hervor und gibt einige Hinweise, wie die Behandlung des Stalldüngers auf dem Hofe eventuell zu vereinfachen wäre, wie vor allem erhebliche Verluste an düngenden Bestandteilen durch besondere, gewissermaßen automatisch wirkende Vorrichtungen vermieden werden können.

Wo die Jauche nicht durch Torf bereits im Stalle aufgesogen wird, sollte sie in eine besondere, nicht mit der Düngerstätte in Verbindung stehende Grube abfließen und hier durch Aufgießen von Oel mit einer dünnen, den Zutritt der Luft verhindernden Schicht bedeckt werden. Der Stalldünger ist auf der Düngerstätte nach dem alten bewährten Rezept „fest und feucht“ zu halten. Verf. zeigt an einigen Beispielen der Praxis, wie durch zweckmäßige Einrichtungen in verhältnismäßig einfacher Weise diesen Forderungen der Düngerpflege Rechnung getragen werden kann.

Vogel (Bromberg).

**Dangeard,** La fécondation nucléaire chez les mucorinées. (Compt. rend. 1906. p. 645.)

Seit Ehrenberg (1820) sind zahlreiche Mucorineen beschrieben, den intimeren Vorgängen im Innern der Zygosporen ist jedoch keine Beachtung geschenkt. Verf. ist es gelungen, an Mucor fragilis und Sporodina grandis die Vorgänge der Kernvereinigung zu beobachten und damit eine Lücke in unserer Kenntnis dieser Organismen auszufüllen.

Das Plasma der Zygosporen geht sehr allmählich, so daß die Beobachtung leicht ist, von dichter Struktur zur vakuolisierten, netzartigen und schließlich alveolären Struktur über. Am Schlusse des „netzartigen“ Stadiums vollzieht sich die „Kernbefruchtung“ (fécondation nucléaire). Es treten nicht alle Kerne gleichzeitig in Aktion, vielmehr nach und nach, wie sie sich in der Plasmaströmung begegnen, wobei der Zufall eine große Rolle spielt.

Die Kernverschmelzung zeigt die bekannten Charakteristica: An der Kontaktstelle verschwindet die Kernmembran, die Nukleoplasmen vermischen sich. Die beiden Nucleoli bleiben innerhalb derselben, sie umschließen den Membran noch kurze Zeit distinkt, dann verschmelzen auch sie.

Die reifen Zygosporen enthalten eine große Anzahl solcher durch Kopulation verdoppelter Kerne, die das Ausgangsmaterial für die Kerne des neuen Thallus bilden. Vageler (Königsberg).

**von Tubeuf,** Notizen über die Vertikalverbreitung der Trametes Pini und ihr Vorkommen an verschiedenen Holzarten. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1906. Heft 2.)

Digitized by Google | Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verf. kritisiert die von der preußischen forstlichen Versuchsstation Eberswalde herausgegebenen Fragebogen über das Vorkommen des Kiefernbaumschwammes und teilt verschiedene Funde des Schädlings aus Höhen über 1500 m mit, bespricht auch die diesbezügliche Literatur. Es ergibt sich so der Schluß, daß Trametes Pini, über ganz Deutschland und über dessen Grenzen hinaus verbreitet, von den tiefgelegensten Orten der deutschen Tiefebene bis zur Baumgrenze und in der Latschenregion der Alpen vorkommt, und zwar nicht nur an allen einheimischen, sondern auch an den wichtigsten der zu uns eingeführten fremdländischen Nadelwaldbäumen auftritt. Sogar ein fossiles Holz existiert, das unverkennbar die Spuren einer Zersetzung durch Trametes an sich trägt.

Ehrenberg (Breslau).

**Bouygues, H.** et **Perreau,** Contribution à l'étude de la Nielle des feuilles de tabac. (Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris. T. CXXXIX. p. 309—310.)

Tabaksamen von einer gesunden Pflanze, deren Blüten durch Gaze gegen die Berührung des Pollen der angesteckten Stauden geschützt worden waren, lieferten den Verff. 98 Proz. gesunde Pflanzen, die von „Nielle“ verschont blieben. Die Infektion der Tabakstauden geschieht jedesmal, wenn eine Wunde auf der Oberfläche eines Organs vorhanden ist und auch in natürlicher oder künstlicher Weise in Berührung mit der Krankheit gebracht wird. Deshalb muß man die Verwendung von Dünger vermeiden, welcher Tabakreste enthält, und die Reste brandiger Pflanzen verbrennen. Diese Vorsichtsmaßregeln im Verein mit der Verwendung ausgesuchten Samens werden es ermöglichen, die gefürchtete Krankheit einzudämmen.

Houard (Paris).

**Houard, C.,** Les galles de l'Afrique occidentale française. I. Cécidie florale de Funtumia africana (Benth.) Stapf. (Marcellia, Avelino. T. IV. 1905. p. 86—96. 22 Fig.)

Die Bibliographie über die Cecidien Westafrikas ist besonders arm und enthält nur kurze Beobachtungen von Miß Ormerod, Kuester und Rübsaamen. So hält es Verf. denn für interessant, einige Gallen vom Kongo und Senegal anzugeben, insbesondere eine interessante Mißbildung der Blüten von Funtumia africana (Kickxia africana Bentham).

Die von Parasiten heimgesuchte Blüte unterscheidet sich von allen anderen beim Aufblühen durch ihre ganz besondere cylindrische Gestalt und ihre bedeutende Größe (ungefähr 3 mal länger als eine normale Blüte, nämlich 50 mm), die auf der starken Entwickelung der Blütenkrone beruht. Die Wand der Blütenkrone ist sehr dick und birgt in ihren inneren Falten zahlreiche kleine Larven.

Verf. gibt von dieser interessanten Blütencecidie eine ziemlich vollständige histologische Beschreibung, wobei er nacheinander die Anatomie des hypertrophierten Stengels, der cylindrischen Blütenkrone, der Staubgefäße und des Stempels klarlegt. In allen hyperplastischen Geweben, besonders in der Krone, sind die Wassergefäßbündel zahlreicher als normal. Viele sehr übersichtliche Figuren begleiten den Text.

Es ist noch zu bemerken, daß die Atrophie der Staubgefäße und die Verzögerung der Entwickelung der Samenanlage eine parasitische Kastration der Blüten bedingt.

Houard (Paris).

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Houard, C.,** Caractères morphologiques et anatomiques des diptérocécidies des Genévriers. (Revue générale de Botanique. T. XVII. p. 198—222. 46 Fig.)

Die zahlreichen von Dipteren auf den Wachholdersträuchern erzeugten Gallen interessieren sowohl durch ihre an kleine Früchte oder Knospen erinnernde Form wie auch durch die verschiedenen sie betreffenden Schriften. Diese Schriften sind so zahlreich, daß Verf. es für interessant befunden hat, das über jede dieser Cecidien Bekannte herauszusuchen und zusammenzustellen. Hierbei hat er sich der Arbeiten von Linné, Meigen, Latreille, Rübsaamen, Thomas, Kieffer, Lagerheim etc. bedient. Neben den Cecidien von Juniperus californica, J. phoenicea, J. excelsa, J. Sabina und J. Oxycedrus sind die von J. communis am zahlreichsten. Sie lassen sich nach der Anzahl der deformierten an ihrer Bildung beteiligten Wirbel in drei Gruppen einteilen: 1) die Galle umfaßt einen einzigen Blattwirtel, beschrieben von Rübsaamen 1889; 2) Cecidien, welche zwei Blattwirtel umfassen, z. B. die Galle von Oligotrophus Panteli und die Galle der alpinen Varietät des Wachholders; 3) die Galle wird von mehreren Wirtelblättchen gebildet und hat die Form einer dicken Knospe; der Erzeuger dieser Galle ist Oligotrophus juniperinus. Um die Zahl der an der Bildung der Gallen beteiligten Blattwirtel klar hervorzuheben, gibt Verf. davon Diagramme, welche die die äußere Morphologie betreffenden Zeichnungen vervollständigen.

Dieselbe Arbeit bringt auch für jede Galle die anatomischen Kennzeichen der hypertrophischen Blätter. Dieselben sind auf zwei großen, sehr anschaulichen Tafeln zusammengestellt. Folgendes sind die hauptsächlichsten anatomischen Merkmale: 1) Das Vorhandensein der Larve des Gallenerregers bewirkt einen Stillstand in der Entwickelung und in der Differenzierung der Gewebe des oberen Blattwirtels, dessen Blätter in direkter Berührung mit dem Parasiten stehen. 2) Die Erscheinungen von Hypertrophie und Hyperplasie erreichen den Höhepunkt ihrer Intensität in den vom Parasiten am weitesten entfernten Blättern, welche dem zweiten oder dritten Wirtel angehören. 3) Der Durchmesser des Sekretionskanals der vom Parasiten beschlagnahmten Blätter ist sehr verändert. 4) Der alpine Charakter der in großer Höhe befindlichen Wachholdergallen (Juniperus nana und J. Sabina) tritt stärker hervor, ebenso der Saharacharakter der Cecidie von Juniperus Oxycedrus.

Houard (Paris).

**Koch,** Versuche über den Einfluß der Leinwandsäcke bei künstlichen Borkenkäferzuchten. (Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 4.)

Bei Versuchen, die Verf. mit Tomicus typographus anstellte, zeigte die Paulysche Sackmethode keine verzögernde Einwirkung auf die Zeit des Ausschwärmens, was gegenüber den von anderer Seite geäußerten Bedenken wichtig ist.

Ehrenberg (Breslau).

**Nüsslin,** Der Fichtenborkenkäfer Tomicus typographus L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. Nachwort. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 1.)

Verf. kommt auf den bereits mehrfach im Referat hier behandelten Streit mit Knoche bezüglich der Fichtenborkenkäfer zurück. Da seine Ausführungen im wesentlichen nur eine Besprechung der vorhandenen

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Literatur im Sinne der Rechtfertigung der eigenen Auffassung darstellen, so mag hier für Interessenten ein Hinweis auf das Original genügen.

Ehrenberg (Breslau).

**Baer,** Lophyrus similis Htg. (Naturwissensch. Zeitschrift f. Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 2.)

Gegen die von Konow in seiner „Systematischen Zusammenstellung der bisher bekannt gewordenen Chalogastra" aufgegebene Unterscheidung von Lophyrus similis und Lophyrus pini L. wendet sich Verf. in längerer Auseinandersetzung. Er verlangt auf Grund der Biologie ihre Auseinanderhaltung, bringt aber auch morphologische Gründe verschiedener Art hierfür bei. So besonders die mikroskopischen Verschiedenheiten der Legesägen, des männlichen Genitalapparates, des Fühlerbaues. Auch weiterhin geschilderte Züchtungsversuche sprechen für die Artselbständigkeit von L. pini und similis.

Ehrenberg (Breslau).

**Fuchs,** Der Buchenspinner (Aglia Tau L.). (Naturwissenschaftl. Zeitschrift f. Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 4.)

Verf. behandelt zunächst die Eigentümlichkeiten im Fraße des Buchenspinners (Aglia Tau) im Gegensatz zur Nonne (Psilura monacha L.) und Rotschwanz (Dasychira pudibunda L.). Dann folgen Angaben über die Entwickelung des in den Karawanken ziemlich häufigen Tieres.

Ehrenberg (Breslau).

**Reissinger,** Waldbeschädigung durch Eichhörnchen. (Naturwissensch. Zeitschrift f. Land- u. Forstwirtschaft. 1906. Heft 2.)

Verf. schildert Waldbeschädigungen durch Eichhörnchen, die sich, abgesehen von vollständiger Zerstörung der Kiefern- und Fichtenzapfen in den älteren Beständen, besonders durch Verbiß fast sämtlicher Knospen der vorjährigen Gipfeltriebe in einer 14-jährigen Schonung äußerten. Außerdem zeigte sich an 12—15 m hohen Lärchen (1884 gepflanzt) die Rinde an 1—4-jährigen Jahrestrieben meist rings um den Trieb herum geschält, und zwar nur an den Stammteilen, nicht an den Zweigen, wo das Abziehen der Rinde wohl weniger bequem, vielleicht auch der Saft den schädlichen Nagern nicht reichlich genug ist,

Ehrenberg (Breslau).

## Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Gerber** und **Hirschi,** Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Milch. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 3.)

Die Verff. erzielten unter Verwendung einer Quecksilber- (Uviol-) Lampe zur Bestrahlung von Milch mit ultraviolettem Licht keinen bakteriziden Erfolg. Wenn sie auch annehmen, daß bei Benutzung erheblich längerer und stärkerer Bestrahlung, als sie zur Anwendung gelangte, eine Sterilisation herbeizuführen sei, so vermögen sie auf Grund ihrer Versuche auch hiervon eine praktische Anwendbarkeit des Verfahrens nicht zu erhoffen.

Ehrenberg (Breslau).

### Corrigendum.

In dem Referate von Alfr. Röhling, „Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des Saccharomyces apiculatus" in Bd. XVII. No. 17/18 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. auf p. 558, Zeile 6 muß es heißen: „zur Keimung gebracht" anstatt „zur Hemmung gebracht"; Zeile 9 „Rassen des Saccharomyces" anstatt „Reste des Saccharomyces".

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

# Inhalt.

**Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.**

Aus der mikrobiologischen Gesellschaft zu St. Petersburg.

**Dzierzgowski, S. K.,** Zur Theorie der Wirkung der künstlichen biologischen Filter, p. 785.
—, Zur Frage von der Bedeutung der Faulbassins für die biologische Reinigung von Abwässern, p. 785.
**Dzerjgowsky, S.,** Zur Frage über die Desinfektion von Abwässern, p. 786.
**Palladin, W.,** Die Atmungsenzyme der Pflanzen, p. 785.

**Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

**Rothenbach, F.,** Fortzüchtung von Reinzucht-Essigbakterien und ihre Uebertragung in den Betrieb, p. 787.
—, Zur Systematik der Essigbakterien, p. 787.
**Stockhausen, Ferdinand,** Oekologie, „Anhäufungen“ nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht, p. 786.

Betriebslaboratorium der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin.

**Schönfeld, F.** und **Rommel, W.,** Die Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin. Mitteilung aus dem Betriebslaboratorium, p. 787.

---

**Henneberg, W.,** Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien (Beschreibung 5 neuer Essigbakterien und des B. xylinum mit 9 Zeichnungen und einer Tafel mit 28 Photogrammen von 15 Essigbakterienarten), p. 789.

Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgen. Polytechnikums in Zürich.

**Burri, R.,** Intramolekulare Atmung, Anaërobiose und Mikroaërophilie, p. 804.

Schweizer. Milchwirtschaftl. Versuchsanstalt, Liebefeld b. Bern.

**Orla Jensen,** Ueber den Einfluß des Salzens auf die im Emmentalerkäse stattfindende Lochbildung, p. 807.

**Referate.**

**Baer,** Lophyrus similis Htg., p. 815.
**Bouygues, H.** et **Perreau,** Contribution à l'étude de la Nielle des feuilles de tabac, p. 813.
**Dangeard,** La fécondation nucléaire chez les mucorinées, p. 812.
**de Astis, G.,** Esperienze di vinificazione in Barletta, p. 809.
**de Feo, A.,** Su la composizione dei vini fosfatati, p. 809.
**Fuchs,** Der Buchenspinner (Aglia Tau L.), p. 815.
**Funaro, A.** e **Rastelli, A.,** Su lo stato di combinazione organica del fosforo nei vini, p. 809.
**Houard, C.,** Les galles de l'Afrique occidentale française. I. Cécidie florale de Funtumia africana (Benth.) Stapf, p. 813.
—, Caractères morphologiques et anatomiques des diptérocécidies des Genévriers, p. 814.
**Koch,** Versuche über den Einfluß der Leinwandsäcke bei künstlichen Borkenkäferzuchten, p. 814.
**Machida,** On the influence of calcium and magnesium salts on certain bacterial actions, p. 811.
**Maddalozzo, Cr.,** Su la ricerca della lecitina, p. 810.
**Martinotti, F.** e **Levi, A.,** Su la ricerca dei nitrati nel vino in rapporto a l'annacquamento, p. 810.
**Montoneri** e **de Feo, A.,** Intorno alla lecitina dei vini, p. 810.
**Nüsslin,** Der Fichtenborkenkäfer Tomicus typographus L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pullendorf, p. 814.
**Pagnotta, D.,** La lecitina nei vini, p. 810.
**Reissinger,** Waldbeschädigung durch Eichhörnchen, p. 815.
**Stutzer,** Die Behandlung des Stalldüngers auf dem Hofe, p. 812.
**von Tubeuf,** Notizen über die Vertikalverbreitung der Trametes Pini und ihr Vorkommen an verschiedenen Holzarten, p. 812.

**Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**

**Gerber** und **Hirschi,** Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Milch, p. 815.

**Corrigendum,** p. 815.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

# Inhaltsverzeichnis.

## I. Verzeichnis der in Band XVII enthaltenen Arbeiten.


**Astis, G. de,** Esperienze di vinificazione in Barletta. 809

**Baer,** Lophyrus similis Htg. 815
**Banks,** The principal insects injurious to the coconut-palm. Part I. 291
**Barthel,** Können die Milchsäurebakterien einen konservierenden Einfluß auf den Stalldünger ausüben? 567
**Battige, A.,** Abwasserdesinfektion. Ein Beitrag zur Frage der Desinfektionseinrichtungen bei Abwasserreinigungsanlagen. 298
**Baur, Erwin,** Ueber die infektiöse Chlorose der Malvaceen. 270
**Bergtheil,** The study of fermentation as applied to agriculture. 259
**Bettges, W.,** Zur Sarcinafrage. Erwiderung auf die berichtigenden und ergänzenden Bemerkungen von H. Hjelte Claussen. 558
**Bippart,** Wird durch die Brache dem Acker Stickstoff aus der Luft zugeführt, der den Halmfrüchten als Nahrung dient? 571
**Boekhout, F. W. J.** und **Ott de Vries, J. J.,** Ueber die Edamerkäsereifung. *(Orig.)* 491
**Bötticher,** Die Tätigkeit der Bodenbakterien im Haushalt der Natur. 568
**Bouygues, H. et Perreau,** Contribution à l'étude de la Nielle des feuilles de tabac. 813
**Braun,** Der Stand der biologischen Abwasserreinigung. 298
**Bredemann s. Haselhoff.**
**Briem, H.** und **Stromer, F.,** Beobachtungen über normale und abnormale Stengelbildung bei Schoßrüben und Untersuchungen über die Wanderung des Zuckers in der Rübe. 275
**Buller, A. H. R.,** The reactions of the fruitbodies of Lentinus lepideus Fr. to external stimuli. 290
**Burri, R.,** Intramolekulare Atmung, Anaërobiose und Mikroaërophilie. *(Orig.)* 804
**Busse, Walter,** Ueber Aufgaben des Pflanzenschutzes in den Kolonieen. 301

**Chrétien, P.,** Les chenilles des Santolines. 293
**Christensen, Harald R.,** Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. *(Orig.)* 109. 161. 378. 528
**Coppenrath s. König, J.**
**Criddle,** The fly agaric and how it affects the cattle. 294
**Cruchet, Paul,** Contribution à l'étude biologique et quelques Puccinies sur Labiées. *(Orig.)* 212. 395. 497. 674

**Dangeard,** La fécondation nucléaire chez les mucorinées. 812
**Dawson,** Der Mechanismus der Enzym- und Fermentwirkung. 240
**Devarda,** Die Görzer Prünellenindustrie mit besonderer Rücksichtnahme auf das „Schwefeln" des Obstes. 301
**Dewitz, J.,** Der Einfluß der Wärme auf Insektenlarven. *(Orig.)* 40
**Dzerjgowsky s. a. Dzierzgowski.**
—, Zur Frage über die Desinfektion von Abwässern. *(Orig.)* 786
**Dzierzgowski s. a. Dzerjgowsky.**
—, Zur Frage von der Bedeutung der Faulbassins für die biologische Reinigung von Abwässern. *(Orig.)* 785
—, Zur Theorie der Wirkung der künstlichen biologischen Filter. *(Orig.)* 785

**Ehrenberg s. Pfeiffer.**
**Erlwein, G.,** Einzelanlagen zur Sterilisation von Trink- und Industriewasser durch Ozon. 297
**Ernest, Adolf s. Stoklasa, J.**

**Feo, A. de s. Montoneri, C.**
—, Su la composizione dei vini fosfatati. 809
**Fischer, Alfred,** Ueber Plasmoptyse der Bakterien. 238
**Fischer, Ed.,** Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen. *(Orig.)* 203
**Fischer, Hugo,** Ueber Giftpilze und ihre Gifte. 237
**Franke, Otto,** Die Zukunft der Weißbierbrauerei. 560
**v. Freudenreich, Ed. u. Jensen, Orla,** Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung. *(Orig.)* 529
— —, Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung. *(Orig.)* 225
**Fuchs,** Der Buchenspinner (Aglia Tau L.). 815




Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Fuhrmann, Franz,** Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. *(Orig.)* 356. 453. 615
**Funaro, A.** et **Bastelli, A.,** Su lo stato di combinazione organica del fosforo nei vini. 809

**Gabotto, L.,** Di un ifomicete parassita della vite. 289
**Gerber** u. **Hirschi,** Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Milch. 815
**Gorini,** Ricerche batteriologiche sul formaggio Gorgonzola. 257
**Gruber, Th.,** Beitrag zur Identifizierung des Bacillus mesentericus ruber. *(Orig.)* 644
—, Einige Untersuchungen und Beobachtungen an den echten Milchsäureerregern des Molkereigewerbes. *(Orig.)* 755
—, Ueber die Ursache der braunroten Färbung von Hart- und Weichkäsen. *(Orig.)* 761

**Hansen, Emil Chr.,** Considerations on technical mycology. 554
**Harden** and **Young,** The alcoholic ferment of Yeast-Juice. 251
**Harrison, F. C.,** A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus. *(Orig.)* 34. 120. 166. 384.
**Haselhoff** u. **Bredemann,** Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien. 267
**Hasenbäumer** s. **König, J.**
**Hecke, L.,** Die Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung. 273
**Heinze, Berthold,** Sind Pilze im stande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? 266
**Hempel, Walther,** Ueber die Gewinnung einwandsfreier Milch für Säuglinge, Kinder und Kranke. 255
**Henneberg, W.,** Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien (Beschreibung 5 neuer Essigbakterien und des B. xylinum mit 9 Zeichnungen und einer Tafel mit 28 Photogrammen von 15 Essigbakterienarten). *(Orig.)* 789
**Herter, Wilhelm,** Die Ausbreitung der Stachelbeerpest, Sphaerotheca mors uvae (Schweinitz) Berkely, in Europa im Jahre 1906. *(Orig.)* 764
**Hesse,** Untersuchungen von Wässern, die für Molkereizwecke bestimmt sind. 256
**Hest, J. J. van,** Pseudovakuolen in Hefezellen. *(Orig.)* 8. 91. 147. 345. 689
**Hetsch,** Ueber den heutigen Stand der Frage der Trinkwassersterilisation durch Chemikalien. 296
**Hiltner** u. **Kintzel,** Ueber die Ursachen und die Beseitigung der Keimungshemmungen bei verschiedenen praktisch wichtigeren Samenarten. 574
**Hirschi** s. **Gerber.**
**Hoffmann, W.,** Ueber den Einfluß hohen Kohlensäuredruckes auf Bakterien im Wasser und in der Milch. 587
**Hollrung,** Beiträge zur Bewertung der Saatkrähe auf Grund von 11-jährigen Magenuntersuchungen. 585
—, Einige Bemerkungen über das Wachstum der Zuckerrüben während des Jahres 1905. 276
**Houard, C.,** Caractères morphologiques et anatomiques des diptérocécidies des Genévriers. 814
—, Cueillette cécidologique dans le Bassin de la Garonne. 580
—, Les diptérocécidies des Genévriers. 580
—, Les galles de l'Afrique occidentale française. I. Cécidie florale de Funtumia africana (Benth.) Stapf. 813
—, Les galles de l'Afrique occidentale française. II. Diptérocécidie foliaire de Ficus Vogeli Miquel. 581
—, Sur l'anatomie de la galle de l'involucre des Euphorbes. 582
—, Sur une diptérocécidie nouvelle du Daphne Laureola L. 581
**Howard-Jonas, J.,** Cupper-sulfate-treatment of reservoirs. 298
**Hutchinson, H. B.,** Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. *(Orig.)* 65. 129. 321. 417. 593

**Jacobsen, H. C.,** Ueber einen richtenden Einfluß beim Wachstum gewisser Bakterien in Gelatine. *(Orig.)* 53
**Jamieson,** Utilisation of nitrogen in air by plants. 264
**Jensen, Orla** s. **Freudenreich, Ed. v.**
—, Ueber den Einfluß des Salzens auf die im Emmentalerkäse stattfindende Lochbildung. *(Orig.)* 807

**Istvánffi, Gy. de,** Études microbiologiques et mycologiques sur le rot gris de la vigne (Botrytis cinerea — Sclerotinia Fuckeliana). 280

**Kadgien,** Die chemischen und physikalischen Veränderungen des Bodens bei der Brache mit Berücksichtigung der Frage, ob bei derselben ein Raubbau stattfindet. 573
**Kambersky,** Ueber den Einfluß der Nährstoffsalzimprägnierung auf die Keimung der Samen. 268
**Kayser,** Les microbes du sol. 261
— **E.** u. **Manceau, E.,** Sur la maladie de la graise des vins. 253
**Kienitz,** Kampf gegen den Kiefernbaumschwamm. 290
**Kintzel** s. **Hiltner.**
**Knotek,** Zweiggallen von Phytoptus pini Nalepa an der Weißkiefer. 291
**Koch,** Versuche über den Einfluß der Leinwandsäcke bei künstlichen Borkenkäferzuchten. 814
— u. **Kröber,** Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten. 570
**Koch, A.,** Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. Vortrag, gehalten am 4. Dez. 1903 in der Oekonomischen Gesellschaft im Königreich Sachsen. 262
**Köck,** Ergebnisse mit der Issleibschen Nährsalzimprägnation. 269
**König, J.,** Einige neue Eigenschaften des Ackerbodens. — In Gemeinschaft mit Hasenbäumer und Coppenrath. Vorläufige Mitteilung. 260
**Köstler,** Ueber die chemische Zusammensetzung der Molke und der Käsemasse während der eigentlichen Fabrikation des Emmentalerkäses. 255
**Kohn, E.,** Weitere Beobachtungen über saccharophobe Bakterien. *(Orig.)* 446
**Kornauth, Karl,** Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen Pflanzenschutzstation in Wien über das Jahr 1905. 300
**Kossowicz, Alexander,** Die Zersetzung des französischen Senfs durch Bakterien. 258
**Krieg, Walther,** Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. Vorläufige Mitteilung. *(Orig.)* 208
**Kröber** s. **Koch.**
**Kühle,** Die Anwendung von geschältem und desinfiziertem Rübensamen. 303
**Kuntze, W.,** Ein Thermostat für niedrige Temperatur. *(Orig.)* 684
**Kunze,** Ueber Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung. 259

**Laer, H. van,** Ueber die diastatische Katalyse von Wasserstoffsuperoxyd. *(Orig.)* 546
**Lafar,** Handbuch der technischen Mykologie. 241. 548
**Laurent, J.,** Les facteurs de la structure chez les végétaux. 580
**Lebedeff, A. F.** s. **Nabokich, A. J.**
**Leck, van der, J.,** Aromabildende Bakterien in der Milch. *(Orig.)* 366. 480. 647
**Levi, A.** s. **Martinotti, F.**
**Löb, Walther,** Zur Kenntnis der Assimilation der Kohlensäure. 560
**Löhnis, F.** und **Parr, A. E.,** Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. III. *(Orig.)* 518
**Ludwig,** Die Aepfel und die Wohnungsmilben. 294
**Lüders, H.,** Sesia flaviventris Stdgr. 585

**Machida,** On the influence of calcium and magnesium salts on certain bacterial actions. 811
**Maddalozzo, Cr.,** Su la ricerca della lecitina. 810
**Magerstein, Vinz, Th.,** Laktoformol, ein neues Antiseptikum in der Brennerei. 299
**Manceau, E.** s. **Kayser, E.**
**Martinotti, F.** e **Levi, A.,** Su la ricerca dei nitrati nel vino in rapporto a l'annacquamento. 810
**Maxwell-Lefroy,** The Bombay locust (Acridium succinctum Linn.). A report on the investigations of 1903—1904. 583
— —, **H.,** The insect pests of cotton in India. 293
**McAlpine, D.,** A new genus of Uredineae Uromycladium. 272
**Mewes,** Der Kiefernspinner in Schweden 1903 und 1904. 294
**Meyer, Arthur,** Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. 237
**Molliard, M.,** Nouveau cas de virescence florale produite par un parasite localisé dans le collet. 580
—, Stucture des végétaux développés à la lumière, sans ganz carbonique, en présence de matières organiques. 579
**Molz, Emil,** Ueber die Bedingungen der Entstehung der durch Sclerotinia fructigena erzeugten ‚Schwarzfäule' der Aepfel. *(Orig.)* 175
**Montoneri, C.** e **Feo, A. de,** Intorno alla lecitina dei vini. 810
**Müller, Leo,** Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft, nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken. *(Orig.)* 468
—, **Wilhelm,** Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum. Vorläufige Mitteilung. *(Orig.)* 210
**Müller-Thurgau, H,** Ueber den Einfluß der schwefligen Säure auf Entwickelung und Haltbarkeit der Obstweine. *(Orig.)* 11 224
**Nabokich, A. J.** und **Lebedeff, A. F.,** Ueber die Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien. *(Orig.)* 350
**Nüsslin,** Der Fichtenborkenkäfer Tomicus typographus L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. Nachwort. 814

**Osterwalder,** Die Sklerotienkrankheit bei den Forsythien. 277
**Ott de Vries, J. J.** s. **Boekhout, F. W. J.**

**Pacottet, P.** s. **Viala, P.**
**Pagnotta, D.,** La lecitina nei vini. 810
**Palladin, W.,** Die Atmungsenzyme der Pflanzen. *(Orig.)* 785
**Pantanelli, E.,** Ricerche sul turgore delle cellule di lievito. 239
**Parr, A. E.** s. **Löhnis, F.**
**Pée-Laby, E.,** La Passiflore parasite sur les racines du Fusain. 291
**Peglion, Vitt.,** Moria di piantoni di gelso cagionata da „Gibberella moricola" (De Not.) Sacc. 279
**Peglioni, Vitt.,** Intorno al un caso di emiparassitismo del Rhacodium cellare Pers. 250
**Perotti, R.,** Distribuzioni dell'Azotobacterio in Italia. 264

**Perreau** s. **Bouygues, H.**
**Petry,** Ueber die Einwirkung des Labferments auf Kasein. 562
**Pfeiffer, Ehrenberg** und **Reichenbach,** Ueber die Stickstoffbindung im Ackerboden. 568
**Pfister,** Die Gewinnung von Preßhefe alter Methode ohne Verwendung von Schlempe oder Schwefelsäure. 250
**Pinoy,** Rôle des bactéries dans le développement du Plasmodiophora Brassicae. 576
**Poirault, G.,** Sur une Chytridinée parasite du Muscari comosum 576
**Politzer, Arnold,** Der Leuconostoc mesenterioides in der Melassebrennerei. 258

**Rastelli, A.** s. **Funaro, A.**
**Ravaz, L.,** Sur la cause du dépérissement des vignes de la Tunisie, de l'Algérie et du Midi de la France. 579
— et **Roos, L.,** Sur le rougeot de la vigne. 579
**Reichenbach** s. **Pfeiffer.**
**Reissinger,** Die Verwendung des Grünfäuleholzes. 272
—, Waldbeschädigung durch Eichhörnchen. 815
**Rella, Attilio,** Das biologische Reinigungsverfahren. 295
**Remy, Th.,** Deutsche Nitragin- und amerikanische Nitrokulturen als Impfmittel für Hülsenfrüchte. *(Orig.)* 660
Annual **Report** of the Imperial Department of Agriculture for the year 1904—1905. 234
**Rheinfels, Curt,** Das Maltodextrin γ, ein Zwischenprodukt der diastatischen Stärkehydrolyse. 559
**Rivas, D.,** Contribution concerning the purification of water by ozone. *(Orig.)* 506
**Rodella, Antonio,** Ueber zwei Milchanaëroben der Buttersäuregruppe, welche in der Milch keine Buttersäuregärung hervorrufen. (9. Mitteilung.) *(Orig.)* 374
**Röhling, Alfr.,** Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des Saccharomyces apiculatus. 558. 815
**Rommel, W.** s. **Schönfeld, F.**
**Roos, L.** s. **Ravaz, L.**
**Rothenbach, F.,** Fortzüchtung von Reinzucht-Essigbakterien und ihre Uebertragung in den Betrieb. *(Orig.)* 787
—, Zur Systematik der Essigbakterien. *(Orig.)* 787

**Saito, K.,** Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung. *(Orig.)* 20. 101. 152
**Savage,** The coagulation of milk by Bacillus coli communis. 255
**Schellenberg, H. C.,** Ueber Sclerotinia Mespili und Sclerotinia Ariae. *(Orig.)* 188
**Schikorra, Georg,** Fusariumkrankheiten der Leguminosen. 577
**Schmidt, H.,** Zur Kenntnis der Hefegärung. 557
**Schöne, Albert,** Bakteriologische Untersuchungen und Betrachtungen über das Lagern von Rohzucker. 563
— **F.** und **Rommel, W.,** Die Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei Berlin. Mitteilung aus dem Betriebslaboratorium. *(Orig.)* 787
**Schorstein,** Förderung der Luftmycelbildung auf der Oberfläche verpilzter Hölzer durch Behandlung mit Formaldehyd. 270
—, **Josef,** Zerstören die Pilze das Xylan? Bemerkungen zum 6. Hefte des III. Bandes der technischen Mykologie von Dr. Franz Lafar. 271
**Schouteden, H.,** Un nouvel ennemi du Cacaoyer en Afrique. 293
**Schulze, E.,** Ueber den Abbau und den Aufbau organischer Stickstoffverbindungen in den Pflanzen. 567
**v. Seelhorst,** Die Brache. 571
**Siau, R. L.,** Brewery infection and pure yeast. 559
**Slaus-Kantschieder, J.,** Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Spalato über das Jahr 1905. 303
**Stäger, Rob.,** Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkornes. *(Orig.)* 773
**Stockhausen, Ferdinand,** Oekologie „Anhäufungen" nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht. *(Orig.)* 786
**Stoklasa, Julius,** Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? *(Orig.)* 27
—, Ueber die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobakter und Radiobakter. Unter Mitwirkung von Adolf Ernest, Johann Trenka und Eug. Vítek. 262
— und **Vitek,** Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure im Boden. 571
**Strohmer, F.** s. **Briem, H.**
**Stutzer,** Die Behandlung des Stalldüngers auf dem Hofe. 812
—, Die Gewinnung des Stickstoffes für die Landwirtschaft im 20. Jahrhundert. 565
—, Die Wirkung von Nitrit auf Pflanzen. 566

**Teichert, Kurt,** Ueber eine als Żur bezeichnete Mehlteiggärung. *(Orig.)* 376
**Trnka, Johann** s. **Stoklasa, J.**
**Tschermak, Erich,** Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und Gerste und das Auftreten von Mutterkorn. 274
**Tubeuf, Karl Freih. v.,** Hexenbesen an Pinus Strobus. 291
—, Notizen über die Vertikalverbreitung der Trametes Pini und ihr Vorkommen an verschiedenen Holzarten. 812
—, Zur Abwehr der Angriffe von Ingenieur Schorstein. 272

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

**Ullrich,** Welche Vorgänge spielen sich im Ackerboden während der Brachehaltung ab? 572
**Uyeda,** Bacillus nicotianae, spec. nov., die Ursache der Tabakwelkkrankheit oder Schwarzbeinigkeit in Japan. 278
—, **Y.,** Eine Bakterienkrankheit von Zingiber officinale. (Vorl. Notiz.) *(Orig.)* 383
**Vestergren, T.,** Monographie der auf der Leguminosengattung Bauhinia vorkommenden Uromyces-Arten. 274
**Viala, P.** et **Pacottet, P.,** Nouvelles recherches sur l'anthracnose de la vigne. II.: Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du Manginia ampelina. 578
—, Sur les kystes des Gloeosporium et sur leur rôle dans l'origine des levures. 578
—, Sur les levures de champignons à périthèces (Gloeosporium). 578
—, Sur les levures sporulées de champignons à périthèces (Gloeosporium). 555
**Vieth,** Das Verfahren zur Frischhaltung der Milch. 299
**Vitek, Eugen** s. **Stoklasa, J.**
**Vosseler, J.,** Die bunte Stinkschrecke. 582
—, Ein Schädling von Ficus elastica. 582
**Vries, Ott de** s. a. **Ott de Vries.**
**Vuillemin, P.,** La castration femelle et l'androgénie parasitaires du Lonicera Periclymenum. 577
**Vuillemin, P.,** Le problème de l'origine des levures. 555
—, Recherches sur les champignons parasites des feuilles de Tilleul (Cercospora, Phyllosticta, Helminthosporium). 290

**Will, H.,** Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. [II. und III. Mitt.] *(Orig.)* 1. 3. 75. 137. 331. 428. 604. 693.
**Witt, O. N.,** Die Nutzbarmachung des Luftstickstoffes. 565
**Wolf, Karl,** Säuregrad und Keimgehalt bei gewöhnlicher und bei pasteurisierter Milch. 564
**Wortmann, Julius,** Die wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft. 252

**Yégounow, Michel,** Impression directe sur le papier photographique des objets pour remplacer les dessins à la main. Verre bactériologique correspondant. *(Orig.)* 412
**Young** s. **Harden.**

**Zach, Franz,** Ueber Erineum tiliaceum. 291
**Zikes,** Ueber geotaktische Bewegungen des Bacterium Zopfii. 547

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

Abwasser, biologisches Reinigungsverfahren. 295. 298
—, biologische Reinigung, Bedeutung der Faulbassins. 785
—, Wirkung der künstlichen biologischen Filter. 785
—, Desinfektion. 298. 786
Ackerboden s. a. Boden.
Acridium succinctum Linn., Bombay-Heuschrecke, Leben und Bekämpfung im Jahre 1903/1904. 583
Aecidien, Ranunculaceen bewohnende, Infektionsversuche. 208
Aecidium Euphorbiae Gerardianae n. sp. E. Fischer, Entwickelungskreis. 211
— Ficariae, Infektionsversuche. 208
— Prunellae Wint., Beziehung zu Puccinia Prunellarum-Moliniae n. sp. Cruchet. 503
— punctatum, Infektionsversuche. 209
— Seseli Nissl, Entwickelung. 203
Aërobacter aërogenes, Vorkommen in der Milch. 367
— coli, Vorkommen in der Milch. 367
Aglia Tau L., Fraßeigentümlichkeiten und Entwickelung. 815
Agrotis, Schädling der Zuckerrübe. 277
Algen, Assimilation des Luftstickstoffes. 266
Amanita muscaria, Wirkung auf das Vieh. 295
Anaërobiose, Untersuchungen. 804
Anthomyia conformis, Schädling der Zuckerrübe. 276
Anthonomus rubi, Schädling der Erdbeeren. 301
Anthraknose, Rebenkrankheit, durch Manginia ampelina verursacht. 578
Apfel, Schwarzfäule, durch Sclerotinia fructigena verursacht. 175
— als Verbreiter von Glycyphagus domesticus. 294
Aphis-Arten, Bekämpfung. 303
Aroma bildende Bakterien in der Milch. 366. 480. 647.
Aspergillus-Arten, Vorkommen im Rohzucker. 564
Aspergillus, Wirkung auf gegerbtes Leder. 245
— glaucus Link im Tamarikoji. 159
— Oryzae (Ahlbg.) F. Cohn im Soyakoji, Morphologie und Biologie. 26. 101
— Rehmii Zukal im Tamarikoji, Morphologie. 159

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Assimilation der Kohlensäure, Versuche. 560
Atmung, intramolekulare, Untersuchungen. 804
Atmungsenzyme der Pflanzen. 785
Atomaria linearis, Schädling der Zuckerrübe. 276
Azotobacter chroococcum, Assimilation von Stickstoff. 262. 266
— —, Verteilung in Italien. 264
— —, Vorkommen und Verbreitung in verschiedenen Böden. 109. 161. 378. 528

Bacillus acidi lactici s. a. Bakterien, Milchsäure-.
— — —, Konservierung des Stalldüngers. 567
— — propionici, Morphologie und Biologie. 536
— acidificans longissimus zur Hefenmaischesäuerung. 553
— acido-aromaticus, Aromabildung in der Milch, Biologie. 652
— aromaticus, Aromabildung in der Milch, Biologie. 490. 647. 659
— — lactis, Aromabildung in der Milch, Biologie. 647. 659
— casei α, Vorkommen im Schabzieger. 228
— — ε, Vorkommen im Schabzieger. 228
— coli communis, Gerinnung der Milch. 255
— — —, Vorkommen in der Milch. 367
— — —, Wirkung von Ozon. 513
— cylindricus A. Meyer et Blau, Kugelbildung und Plasmoptyse. 238
— denitrificans, Denitrifikation. 28
— filefaciens, Denitrifikation. 28
— fluorescens liquefaciens Flügge s. a. Pseudomonas fluorescens (Flügge) Mig.
— — —, Denitrifikation. 28
— — —, Hygroskopizität der Kolonieen. 322
— — —, Vorkommen in verfaulten Kartoffeln. 37
— — —, Wirkung von Calciumsalzen. 811
— hydrophilus fuscus, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 452
— lactis aërogenes, Vorkommen in der Milch. 367
— — albus, Form der Kolonieen. 73. 129
— — —, Hygroskopizität der Kolonieen. 323
— — —, Struktur der Kolonieen. 422
— — erythrogenes, Ursache der roten Flecke im Gorgonzolakäse. 257
— margaritaceus, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 452
— megatherium, Form der Kolonieen. 129
— —, Hygroskopizität der Kolonieen. 323
— —, Struktur der Kolonieen. 423
— mesentericus, Löslichmachung der Phosphorsäure aus Phosphaten. 570
— — fuscus, Form der Kolonieen. 72
— — ruber aus Milch, Identifizierung. 644
Bacillus mesentericus ruber, Wirkung auf eine Milchsäurebakterie. 757
— — —, Zersetzung der Milch. 644
— — vulgatus, Vorkommen in der Soyamaische. 156
— mycoides, Löslichmachung der Phosphorsäure aus Phosphaten. 570
— —, Vorkommen in verfaulten Kartoffeln. 37
— —, Wirkung von Calciumsalzen. 811
— nicotianae n. sp. Uyeda, Ursache der Tabakwelkkrankheit in Japan. 278
— nobilis, Form der Kolonieen. 73
— odorus, Aromabildung in der Milch, Biologie. 647. 659
— pabuli acidi, Form der Kolonieen. 70
— Pasteuri, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 448
— prodigiosus, Form der Kolonieen. 70
— pyocyaneus Gessard s. Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig.
— racemosus, Form der Kolonieen. 325
— saccharobutyricus, Vorkommen im Quargelkäse. 230
— sinapivagus, Zersetzung des Senfs. 258
— sinapivorax, Zersetzung des Senfs. 258
— solanisaprus, Biologie. 166. 384
— —, Infektionsversuche an Kartoffeln und anderen Pflanzen. 38. 120
— —, Morphologie. 127. 166
— —, Ursache der Kartoffelfäule. 34. 120. 166. 384
— —, Wachstum auf rohen Pflanzen. 172. 384
— —, Wirkung auf Tiere. 390
— Stutzeri, Denitrifikation. 28
— subtilis, Form der Kolonieen. 129
— subtilis, Hygroskopizität der Kolonieen. 322
— —, Rolle in der Gerberei. 244
— —, Struktur der Kolonieen. 421
— —, Vorkommen in der Soyamaische. 156
— —, Vorkommen in verfaulten Kartoffeln. 237
— typhi murium, direkte Kopie auf photographischem Papier. 412
— — —, Hygroskopizität der Kolonieen. 322
— tyrosinaticus, Bildung von Tyrosin. 489
— viscosus bruxellensis, Ursache des Fadenziehendwerdens im Lambic und Faro. 552
— vulgatus, Vorkommen in verfaulten Kartoffeln. 37
— Zopfii, richtender Einfluß beim Wachstum in Gelatine. 54
— —, Verbreitung. 61
Bacterium aceti Hansen, Rolle in der Gerberei. 244
— acidi paralactici s. a. Bakterien, Milchsäure-.
— — propionici a, Morphologie und Biologie. 534
— — — b, Morphologie und Biologie. 534
— aërogenes, Untersuchungen. 756

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacterium aeruginosum Schröter s. Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig.
— arborescens, Rolle in der Gerberei. 244
— casei fusci, Morphologie und Biologie. 761
— centropunctatum, Denitrifikation. 28
— coli, Form der Kolonieen. 70
— —, Hygroskopizität der Kolonieen. 322
— curvum n. sp. Henneberg, Schnellessigbakterium, Morphologie und Biologie. 791
— fluorescens Lehm. et Neum. s. a. Pseudomonas fluorescens (Flügge) Mig.
— —, Isolierung aus dem Boden. 522
— fulvum, Isolierung aus dem Boden. 522
— Güntheri s. a. Bakterien, Milchsäure-.
— — aus Emmentalerkäse, Morphologie und Physiologie. 475. 627
— — aus fadenziehender Milch, Morphologie und Physiologie. 713
— — aus Gras, Morphologie und Physiologie. 628
— — aus Kuhkot, Morphologie und Physiologie. 632
— — aus Milch, Morphologie und Physiologie. 473. 636
— — aus einer Schmetterlingsraupe, Morphologie und Physiologie. 717
— —, Verwandtschaft mit Streptococcus agalactiae. 725
— —, Verwandtschaft mit Streptokokken. 723
— — -ähnlicher Organismus aus Bienenlarven. 640. 713
— — — — aus Mazun, Morphol. und Physiologie. 714
— — -Stämme, Variabilität des Säurebildungsvermögens. 717
— Hartlebi, Denitrifikation. 28
— lactis acidi s. a. Bakterien, Milchsäure-.
— — —, Form der Kolonieen. 72
— — —, Vorkommen im Schabzieger. 227
— — aërogenes, Vorkommen im Schabzieger. 227
— nitrovorum, Denitrifikation. 28
— orleanense n. sp. Henneberg, Schnellessigbakterium, Morphologie und Biologie. 792
— Pasteurianum, Rolle in der Gerberei. 244
— punctatum, Isolierung aus dem Boden. 522
— putidum, Isolierung aus dem Boden. 522
— pyocaneum Lehm. et Neum. s. a. Pseudomonas aeruginosa (Schröter) Mig.
— —, Denitrifikation. 28
— Schützenbachi n. sp. Henneberg, Schnellessigbakterium, Morphologie und Biologie. 790
— Soya n. sp. Saito im Soyakoji und -maische, Morphologie und Biologie. 154
— vini acetati n. sp. Henneberg, Weinessigbakterium, Morphologie und Biologie. 797
— xylinoides n. sp. Henneberg, Weinessigbakterium, Morphologie und Biologie. 794
Bacterium xylinum (Brown), Weinessigbakterium, Morphologie und Biologie. 796
— Zopfii, geotaktische Bewegungen. 547
Bakterien, anaërobe, Assimilation von Stickstoff. 267
—, Anaërobiose. 804
—, Bildung von Aroma in der Milch. 366. 480. 647
—, Bildung von Enzymen. 368. 480
—, Bildung von Farbstoff. 761
—, Boden-, Löslichmachung der Phosphorsäure aus Phosphaten. 570
—, —, Tätigkeit im Haushalte der Natur. 568. 569
—, —, Untersuchungsmethodik. 518
—, Buttersäure-, Vorkommen in der Milch. 366
—, direkte Kopie auf photographischem Papier. 412
—, Einfluß der Beweglichkeit auf die Kolonieenform. 134
—, Einfluß von Calcium und Magnesiumsalzen auf ihre Tätigkeit. 811
—, Einfluß auf die Metamorphose der Salpetersäure im Boden. 571
—, Essig-, Reinzucht. 787
—, —, Systematik. 787
—, Färbung von Kolonieen. 420
—, Farbstoffbildung. 357
—, Fixierung von Kolonieen. 420
—, Form und Bau der Kolonieen. 65. 129. 321. 417. 593
—, Identifizierung durch Glukosidspaltungen. 486
—, Kugelbildung. 237
—, Mikroaërophilie. 804
—, Milchsäure-, echte, Untersuchungen. 755
—, —, Rolle in der Gerberei. 245
—, —, konservierender Einfluß auf den Stalldünger. 567
—, —, (des Typus Günther), vergleichende Untersuchungen. 468. 627. 713
—, — (des Typus Güntheri), Verwandtschaft mit Streptokokken. 723
—, —, Vorkommen in der Milch. 367
—, —, Vorkommen in Żur. 378
— der Milch, Wirkung des Pasteurisierens. 564
—, Oxydation des Wasserstoffes. 350
—, Plasmoptyse. 237. 238
—, Propionsäure-, Morphologie und Biologie. 534
—, richtender Einfluß beim Wachsen in Gelatine. 53
—, Rolle in der Entwickelung der Plasmodiophora Brassicae. 576
—, Rolle in der Gerberei. 244
—, Rolle bei der Reifung des Edamerkäses. 491
—, Rolle bei der Soyabereitung. 154
—, saccharaphobe, Untersuchungen. 446

Bakterien, Schädlinge des Zingiber officinale. 383
—, Schnellessig-, Untersuchungen. 789
—, Stickstoffassimilation. 259. 261. 262. 264. 266. 267
—, Tätigkeit im Boden. 259. 261. 262. 264. 266
—, Ursache der Buttersäuregärung im Schabzieger. 225
—, Ursache der Obstfäulnis. 245
—, Ursache des Zähewerdens der Weine. 253
—, Vorkommen in der Bierwürze. 550
—, Vorkommen im Flaschenbiere. 365. 453. 615
—, Vorkommen im Gorgonzolakäse. 257
—, Vorkommen im Rohzucker. 563
— in Wasser und Milch, Einfluß hohen Kohlensäuredruckes. 587
—, Weinessig-, Untersuchungen. 789. 793
—, Wirkung von Ozon. 509
—, Zersetzung des Senfs. 258
— -kolonieen, hygroskopische Eigenschaften. 136. 321
Bangdi (Kartoffelkrankheit), Vorkommen in Indien im Jahre 1904/1905. 234
Bauhinia, Wirt von Uromyces-Arten. 274
Baumwolle, schädliche Insekten. 293
Bembidium lampros, Schädling der Fichte. 300
Beweglichkeit der Bakterien, Einfluß auf die Kolonieenform. 134
Bewegungen, geotaktische, bei Bacterium Zopfii. 547
Bibio hortulans, Schädling der Zuckerrübe. 276
Bier, Flaschen-, Bakterienflora. 356. 453. 615
—, Gärung. 249
—, Ingwer-, Mykologie. 552
—, Krankheiten. 550
—, Kricken-, Mykologie. 552
—, Neger-, Mykologie. 552
— -brauerei, Weiß-, Zukunft. 560
— -würze, Bakterien. 550
Blüten, Vergrünung durch Insekten. 580
Boden-, Acker-, katalytische Kraft gegenüber Wasserstoffsuperoxyd. 261
—, —, osmotisches Verfahren zur Untersuchung. 261
—, —, Verhalten beim Dämpfen. 260
—, chemische und physikalische Veränderungen während der Brache. 573
—, Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure. 571
—, Vorgänge während der Brache. 572
—, Vorkommen und Verbreitung des Azotobacter chroococcum 109. 161. 378. 528
—, Stickstoffbereicherung während der Brache. 571
—, Stickstoffverluste. 27
—, Tätigkeit der Bakterien. 259. 261. 262. 264
Bodenbakterien s. Bakterien, Boden-.
Bodenuntersuchung, bakteriologische Methodik. 518
Boletus, Wirkung auf das Vieh. 295
Borkenkäfer s. Tomicus typographus.
Botrytis cinerea, Rebenschädling, Biologie. 280
— —, Rolle bei der Birnenfäulnis. 245
— —, Vorkommen auf Forsythia intermedia und suspensa. 277
— —, Wirkung der Bordeauxbrühe. 282
— longibrachiata, Schädling des Tabaks. 243
Brache, chemische und physikalische Verändererungen des Bodens während derselben. 573
—, Stickstoffbereicherung des Bodens während derselben. 571
—, Vorgänge im Boden. 572
Braga, Mykologie. 552
Brand der Tabakpflanze, Bekämpfung. 813
Brandkrankheiten des Getreides, Bekämpfung. 273
Brauereiinfektion. 559
Brauerei, Weißbier-, Zukunft. 560
Brauwesen, Betriebskontrolle. 548
—, Konservierungsverfahren. 247
—, Mykologie. 246
Brennerei, Betriebsstörungen und -kontrolle. 554
—, Mykologie. 553
Buchenspinner s. Aglia Tau L.
Bupestris cariosa, Schädling der Obstbäume. 303
Busa, Mykologie. 552
Buttersäurebacillen, Vorkommen im Schabzieger. 225
Buttersäurebakterien s. Bakterien, Buttersäure-.
Buttersäuregärung im Schabzieger, bakteriologische Untersuchung. 225

Calciumsalze, Einfluß auf die Lebenstätigkeit von Bakterien. 811
—, Wirkung auf Bac. mycoides. 811
—, Wirkung auf Proteus vulgaris. 811
Cassida viridis, Schädling der Zuckerrübe. 277
Cecidien s. a. Gallen.
Cecidie, Diptero-, Blatt-, des Ficus Vogeli Miquel. 581
— —, von Daphne Laureola, Perrisia daphnes. 581
Cecidien, Diptero-, von Juniperus-Arten, anatomische Untersuchungen. 581. 814
Cephaleuros virescens, Parasit des Teestrauches. 236
Cercospora beticola, Schädling der Rüben. 300
— —, Schädling der Zuckerrübe. 277
— microspora Sacc. auf Lindenblättern, Diagnose. 290
— Tiliae Peck s. a. Cercospora microspora Sacc. 290
— tiliae auf Tilia. 300
Chemikalien zur Trinkwassersterilisation. 296
Chlorose, infektiöse, der Malvaceen, Ursache. 270

Generated on 2019-09-21 16:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Chrysogluten s. Pionnotes Cesatii. 289.
Chymosin, durch Bakterien gebildet. 368. 370. 480
—, Nachweis. 368. 370. 480
Chytridinee, Parasit des Muscari comosum. 576
Circinella mucoroides n. sp. Saito im Tamarikoji, Morphologie und Biologie. 159
Cladosporium herbarum im Soyakoji. 104
Claviceps s. a. Mutterkorn.
—, Biologie. 773
— purpurea, Auftreten bei Roggen und Gerste. 274
— Sesleriae Stäger, Varietät der Claviceps purpurea. 773
Cleonus im Mageninhalt von Corvus frugilegus. 586
Clostridium-Formen, Vorkommen im Schabzieger. 231
— Polymyxa Prazmowsky, Zersetzung der Milch. 644
Cnephasia Wahlbomiana, Schädling des Hopfens. 300
Colletotrichum falcatum, Ursache des Zuckerrohrrotrotzes in Indien im Jahre 1904/1905. 235
Conchylis ambiguella, Einfluß der Wärme auf deren Raupen. 41
— austrinana, Gallenbildung an Santolina rosmarinifolia u. S. chamaecyparissus. 293
— corsicana, Gallenbildung an Santolina chamaecyparissus. 293
— florana, Gallenbildung an Santolina. 294
Coniothyrium Diplodiella, Biologie. 280
— Fuckelii auf Rosen. 300
Corvus frugilegus, Bewertung auf Grund von Magenuntersuchungen. 586
— —, Mageninhalt. 585
Coryneum Beijerinckii, Schädling der Pfirsichbäume. 300
— pulvinatum auf Tilia. 300
Cyrtotrachelus, Schädling der Kokosnußpalme. 293

Daphne Laureola, Gallenbildung durch Perrisia daphnes. 581
Dasychira pudibunda L., Fraßeigentümlichkeiten. 815
Dematium-Art, Form der Kolonieen. 329
Dematium pullulans, Schädigung des Bieres. 551
Denitrifikation im Boden. 27
Desinfektion von Abwasser. 298. 786
Diloba caerulocephala, Schädling der Pfirsichbäume. 303
Diplodia cacaoicola, Ursache der Zuckerrohrkrankheit in Indien im Jahre 1904/05. 235
Dipterocecidien s. Cecidien, Diptero-.
Dünger, Stall-, Behandlung. 812
— —, konservierender Einfluß der Milchsäurebakterien. 567
Düngung mit Chilisalpeter, Stickstoffverluste. 27
Dysdercus cingulatus, Schädling der Baumwolle. 293

Edamerkäse s. Käse, Edamer.
Eichhörnchen, Schädling des Waldes. 815
Elektrizität, Nutzbarmachung des Luftstickstoffes. 565. 566
Emmentalerkäse s. Käse, Emmentaler.
Endophyllum, Euphorbiae silvaticae (D. C.) Winter, Entwickelungsgang. 211
Endrosis lacteella, Schädigung der Weinflaschenkorken. 300
Enzyme, Atmungs-, der Pflanzen. 785
—, durch Bakterien gebildet. 368. 480
—, Reaktionen. 368. 480
Enzymwirkung, Mechanismus. 240
Erineum tiliaceum, Biologie. 291
Eriophyes vitis, Schädling des Weinstockes. 300
Essigbakterien s. Bakterien, Essig-.
Eudemis botrana, Einfluß der Wärme auf deren Larven. 41
Euphorbien, Gallenbildung durch Perrisia capsulae. 582
Evonymus japonicus, Wirt von Passiflora coerulea. 291

Färbung von Kolonien. 420
—, braunrote des Käses, durch Bacterium casei fusci verursacht. 761
Fäulnis der Kartoffel, durch Bac. solanisaprus verursacht. 34. 120. 166. 384
— des Obstes, Ursache und Wesen. 245
Farbstoff s. a. Pigment.
—, Bildung durch Bacterium casei fusci. 761
—, Bildung durch Pseudomonas aeruginosa und fluorescens. 357
Faro, Mykologie. 552
Faulbassin, Bedeutung für die biologische Abwasserreinigung. 785
Fermentation, Beziehungen zur Landwirtschaft. 259
Fermentwirkung, Mechanismus. 240
Fichtenborkenkäfer s. Tomicus typographus.
Ficus elastica, durch Mataeus orientalis geschädigt. 583
— Vogeli Miquel, Gallenbildung durch eine Blattdipterocecidie. 581
Filter, biologische, künstliche, Theorie ihrer Wirkung. 785
Fixierung von Kolonieen. 420
Flaschenbier s. Bier, Flaschen-.
Fliegenpilz s. Amanita muscaria.
Fomes annosus, Schädling der Zedern in Indien. 236
Formaldehyd, Förderung der Luftmycelbildung verpilzter Hölzer. 270
Forsythien, von Sclerotinia Libertiana befallen. 277
Funtumia africana (Kickxia africana), Gallen an den Blüten. 813
Fusarium-Krankheiten der Leguminosen. 577
— lateritium, Schädling des Maulbeerbaumes. 279

Generated on 2019-09-21 16:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Fusicladium, Schädling der Obstbäume. 300
Gärung. 246
—, alkoholische, bei Sproßpilzen ohne Sporenbildung. 693
—, Buttersäure-, im Schabzieger. 225
—, Hefe-, Verstärkung durch Pankreaspräparate. 557
— bei Heferasse D u. K der Versuchs- und Lehrbrauerei Berlin, Morphologie und Biologie. 787
—, Mehlteig-, als Żur bezeichnet, Wesen. 376
—, Propionsäure-, im Emmentaler Käse, Ursache. 529
— —, im Käse, Hemmung durch Kochsalz. 808
— —, Ursache der Lochbildung im Emmentaler Käse. 542
Gallen s. a. Cecidien, Dipterocecidien.
— an Daphne Laureola, durch Perrisia daphnes verursacht. 581
— Euphorbien, durch Perrisia capsulae verursacht. 582
— Funtumia africana. 813
— Juniperus-Arten. 581
— —, Anatomie. 814
— Populus angulata. 580
— auf Santolina, durch Conchylis-Arten verursacht. 293
— an Weißkiefern, durch Phytoptus pini verursacht. 291
—, Vorkommen im französisch-westlichen Afrika. 581. 813
—, Vorkommen in Südwestfrankreich. 580
Gelechia gossypiella, Schädling der Baumwolle. 293
Geophilus, Schädling der Zuckerrübe. 276
Gerberei, Mykologie. 244. 245
Gerste, Auftreten von Mutterkorn. 274
Getreide, Brandkrankheiten. 273
Gibberella moricola, Schädling des Maulbeerbaumes. 279
Gifte der Pilze, Entstehung und Zweck. 237
Giftpilze, Entstehung und Zweck des Giftes 237
Gloeosporium, Schädling des Kaffeebaumes in Indien. 236
— ampelophagum Sacc., Sporenbildung nach Hefenart. 555. 556
— nervisequum Sacc., Sporenbildung nach Hefenart. 555. 556. 578
Glukosidspaltungen zur Identifizierung von Bakterienarten. 486
Glycyphagus domesticus, Vorkommen auf Aepfeln. 294
Glykogenbildung bei Sproßpilzen ohne Sporenbildung. 695
Gorgonzolakäse s. Käse, Gorgonzola-. 257
Gortyna flavago, Schädling des Hopfens. 300
Grapholitha pactolana, Schädling der Fichte. 300
Grünfäuleholz, Verwendung. 272
Gummibaum s. a. Ficus elastica.
Gymnosporangium Sabinae, Schädling der Birnbäume. 300
Hefe s. a. Saccharomyces.
—, Ernährung. 242
—, Form der Kolonieen. 73
— als Heilmittel. 248
—, Kahm-, Anzahl und Länge der Zellen unter verschiedenen Kulturbedingungen. 330
Hefen, Laktose-, Vorkommen in der Milch. 367
—, Morphologie und Entwickelungsgeschichte. 241
Hefe, Preß-, Gewinnung. 250
—, Rolle bei der Soyabereitung. 104. 152
—, Soya- s. Saccharomyces Soya.
Hefen, Sporenbildung. 555. 578
— ohne Sporenbildung im Brauereibetriebe. 1. 3. 75. 137. 331. 428. 604. 693
Hefe, Struktur der Kolonieen. 424
— Turgorregulation der Zellen. 239
Hefen, Ursprung. 555. 578
—, Vorkommen im Żur. 378
Hefe, Züchtung. 242. 246
Hefegärung, Verstärkung durch Pankreaspräparate. 557
Heferassen D und K der Versuchs- und Lehrbrauerei Berlin, Morphologie und Biologie. 787
Hefereinzucht, Versuche. 559
Hefesaft, fermentative Wirkung. 251
Hefezelle, Anatomie. 242
Hefezellen, Pseudovakuolen. 8. 91. 147. 345. 689
Helminthosporium Tiliae Fries auf Lindenblättern. 290
Heterodera radicicola an Gurkenwurzeln. 300
— Schachtii, Schädling der Zuckerrübe. 277
Heubacillengruppe, Vorkommen in der Milch. 366
Heuschrecke s. a. Mataeus orientalis Karsch, Acridium succinctum Linn.
Hexenbesenbildung an Pinus Strobus. 291
Hygroskopizität von Bakterienkolonieen. 136. 321
Ingwerbier s. Bier, Ingwer-.
Insekten als Schädlinge der Baumwolle. 293
— — — — Kokosnußpalme. 292
—, Ursache der Vergrünung von Blüten. 580
Insektenlarven, Einfluß der Wärme. 40
Juniperus-Arten, anatomische Untersuchungen der Dipterocecidien. 814
Juniperus Oxycedrus, Gallenbildung durch Rhopalomyia Valerii. 581
Käse, Bacterium casei fusci als Ursache der braunroten Färbung. 761
—, Edamer, Reifung. 491
—, Emmentaler, Einfluß des Salzens auf die Lochbildung. 807
—, —, Propionsäuregärung. 529
—, —, Ursache der Lochbildung. 542
—, —, Zusammensetzung der Molke und Käsemasse. 255
—, Gorgonzola-, bakteriologische Untersuchungen. 257
— Schabzieger, Buttersäuregärung. 225

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kaffeebaum, Krankheiten in Indien. 236
—, durch Zonocerus elegans geschädigt. 582
Kakaobaum, durch Toxoptera theobromae geschädigt. 293
Kartoffelfäulnis, durch Bac. solanisaprus verursacht. 34. 120 166. 384
—, geographische Verbreitung. 35
—, Histologie. 36
Kasein, Wirkung des Labfermentes. 562
Katalyse, diastatische, von Wasserstoffsuperoxyd. 546
Keimung der Samen, Einfluß der Nährsalzimprägnation. 268. 269
Keimungshemmungen bei Samen, Ursachen und Beseitigung. 574
Kellerwirtschaft, wissenschaftliche Grundlagen. 252
Kernverschmelzung bei Mucorineen. 812
Kiefernbaumschwamm, Bekämpfung. 290
Kiefernspinner, Bekämpfung in Schweden im Jahre 1903 und 1904. 294
Kohlensäure, Assimilation, Versuche. 560
Kohlensäuredruck, hoher, Einfluß auf Bakterien in Wasser und Milch. 587
Koji, Ausgangsprodukt für die Soyabereitung, Bestandteile. 22
Kokken, Vorkommen im Rohzucker. 564
Kokosnußpalme, schädliche Insekten. 292
Kolonieen niederer Pilze, Form und Bau. 65. 129. 321. 417. 593
Konservierungsverfahren im Brauwesen. 247
Konzentration des Nährbodens. Einfluß auf die Kolonieenform. 324
Krickenbier, Mykologie. 552
Kugelbildung bei Bakterien. 237
Kupfersulfat zur Klärung von Staubeckenwasser. 298
Kwaß, Mykologie. 552
Labferment, Wirkung auf Kasein. 562
Lactococcus lactis s. a. Bakterien, Milchsäure-.
Laktoformol, Antisepticum in der Brennerei. 299
Laktosehefen s. Hefen, Laktose-.
Lambic, Mykologie. 552
Lecithin, Vorkommen im Wein. 809. 810
Leguminosen, Fusarium-Krankheiten. 577
—, Nutzbarmachung des Stickstoffes. 265
Lentinus lepideus, Reaktion der Fruchtkörper auf äußere Reize. 290
Leuconostoc, Bildung von Schleim in den Kolonieen. 132
—, Form der Kolonieen. 71
—, Vorkommen im Rohzucker. 654
— agglutinans, Flockenbildung in der Preßhefenfabrikation. 554
— mesenterioides in der Melassebrennerei. 258
Licht, Einfluß auf die Fruktifikation von Sclerotinia fructigena. 179
—, Einfluß auf die Kolonieenform. 327. 417
Linde s. Tilia.
Lixus iridis, Schädling des Baumkohles. 301
— myagri, Schädling des Baumkohles. 301
Lochbildung im Emmentaler Käse, Einfluß des Salzens. 807
Lonicera Periclymenum, Veränderungen der Geschlechtsorgane durch Rhopalosiphon Xylostei. 517
Lophyrus pini L., Unterschiede von Lophyrus similis Htg. 815
— similis Htg., Unterschiede von Lophyrus pini L. 815
Luftmycelbildung verpilzter Hölzer, Förderung durch Formalinbehandlung. 270
Magnesiumkarbonat, Begünstigung der Nitrifikation. 811
Magnesiumsalze, Einfluß auf die Lebenstätigkeit von Bakterien. 811
Maltodextrin γ, Zwischenprodukt der diastatischen Stärkehydrolyse. 559
Maltonwein, Mykologie. 552
Malvaceen, Ursache der infektiösen Chlorose. 270
Manginia ampelina, Ursache der Anthraknose der Rebe. 578
Mars, Mykologie. 552
Mataeus orientalis Karsch, Schädling von Ficus elastica. 583
Maulbeerbaum, durch Gibberella moricola (De Not.) Sacc. geschädigt. 279
Mehlteiggärung als Żur bezeichnet, Wesen 376
Melampsora Euphorbiae exiguae, Infektionsversuche. 210
— — Gerardianae, Infektionsversuche. 210
— — Pepli, Infektionsversuche. 210
— — strictae, Infektionsversuche. 210
— Helioscopiae s. str., Infektionsversuche. 210
— Hypericorum (D. C.) Schroeter, Spezialisierung. 211
— Lini, Ursache des Leinrostes in Indien im Jahre 1904/05. 235
Melampsorella Ricini, Ursache des Ricinusrostes in Indien im Jahre 1904/05. 235
Melassebrauerei, Vorkommen von Leuconostoc mesenterioides. 258
Merulius lacrimans, Luftmycelbildung. 270
—, Wirkung auf Xylan. 271. 272
Mespilus germanica, Wirt von Sclerotinia Mespili. 188
Micrococcus a Schöne, Form der Kolonieen. 71
— aquatilis, Anpassung an hohe Zuckerkonzentration. 447
— aurantiacus, Vorkommen im Soyakoji. 156
— candicans, Isolierung aus dem Boden. 522
— concentricus, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 328
— dermatogenes n. sp. Fuhrmann, Vorkommen im Flaschenbiere. 618
— —, Wachstum in Bier. 622
— —, Wachstum auf festen Nährböden. 618
— —, Wachstum auf flüssigen Nährböden. 620
Mikroaërophilie, Untersuchungen. 804
Mikroorganismen, Tätigkeit im Boden. 259. 261. 262. 264. 266
Milbe, Wohnungs- s. Glycyphagus domesticus. 294

Milch, Aroma bildende Bakterien. 366. 480. 647
—, Einfluß hohen Kohlensäuredruckes auf die Bakterien in ihr. 587
—, Einfluß des Pasteurisierens auf den Keimgehalt. 564
—, Einfluß des Pasteurisierens auf den Säuregrad. 564
—, Frischhaltung. 299
—, Gerinnung durch Bac. coli communis. 255
—, Gewinnung, einwandsfreie. 255
—, Vorkommen von Anaëroben der Buttersäuregruppe. 374
—, Wirkung ultravioletter Strahlen. 815
—, Zersetzung durch Bac. mesentericus ruber, Paraplectrium foetidum, Clostridium Polymyxa. 644
Milchanaëroben der Buttersäuregruppe, die in der Milch keine Buttersäuregärung hervorrufen. 374
Milchsäurebakterien s. Bakterien, Milchsäure-.
Molke für den Emmentaler Käse, Zusammensetzung. 255
Molkerei, Untersuchung des Wassers. 256
Molkereigewerbe, Veränderungen an den echten Milchsäureerregern. 755
Monilia, Biologie. 280
—, Schädling der Obstbäume. 300
Moromi = Soymaische. 23
Mucor, Wirkung auf gegerbtes Leder. 245
— -Arten, Vorkommen im Rohzucker. 564
— fragilis, Kernverschmelzung. 812
— mucedo, Rolle bei der Obstfäulnis. 245
Mucorineen, Kernverschmelzung. 812
Musca erythrocephala, Einfluß der Wärme auf deren Raupen. 45
Muscari comosum, Wirt einer Chytridinee Physoderma. 576
Mutterkorn s. a. Claviceps.
—, Auftreten bei Roggen und Gerste. 274
—, Biologie. 773
Mycelbildung, Luft-, verpilzter Hölzer, Förderung durch Formalinbehandlung. 270
Mycoderma, Rolle in der Gerberei. 244
—, Schädigung des Bieres. 551
— -Art in der Soyamaische, Morphologie und Biologie. 153
— cerevisiae, Form der Kolonieen unter dem Einfluß des Lichtes. 328
— —, Struktur der Kolonieen. 593
Mykologie, technische, Betrachtungen. 554
—, technische, Handbuch. 241. 548
Myrin, Mykologie. 552
Nährsalzimprägnation, Einfluß auf die Keimung der Samen. 268. 269
Nectria, Schädling des Cajanus indicus in Indien. 236
„Nielle“ der Tabakpflanze, Bekämpfung. 813
Nitragin, Pflanzenversuche im Felde. 672
—, Pflanzenversuche in Nährlösungen. 667
—, Pflanzenversuche in pasteurisiertem Sande. 669
Nitraginkulturen, deutsche, als Impfmittel für Hülsenfrüchte. 660
Nitrate, Nachweis im Weine. 810
Nitrifikation. 568
—, Begünstigung durch Magnesiumkarbonat. 811
Nitrit, Wirkung auf Pflanzen. 566
Nitrokulturen, amerikanische, als Impfmittel für Hülsenfrüchte. 660
—, bakteriologische Prüfung. 663
—, Pflanzenversuche im Felde. 672
—, Pflanzenversuche in Nährlösungen. 667
—, Pflanzenversuche in pasteurisiertem Sande. 669
Nonne s. Psilura monacha L.

Oberflächenspannung, Einfluß auf die Kolonieenform. 326
Obst, Fäulnis, Ursache und Wesen. 245
—, Mykologie der Haltbarmachung. 245
—, Schutz gegen Fäulnis. 245
—, Zweck des Schwefelns. 301
Oekologie. 796
Oidium lactis, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 417
— —, Hygroskopizität der Kolonieen. 322
— —, Struktur der Kolonieen. 599
— —, Vorkommen in der Milch. 367
— Tuckeri, Rebenschädling, Bekämpfung. 303
— —, Schädling der Reben in Indien. 237
Oligotrophus-Arten, Gallenbildung an Wachholder. 581
— juniperinus, Gallenbildung an Juniperus-Arten. 814
— Panteli, Gallenbildung an Juniperus-Arten. 814
Oospora-Art im Soyakoji. 104
Oryctes Rhinocerus L., Schädling der Kokosnußpalme. 292
Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien. 359
Ozon zur Reinigung des Wassers. 506
— zur Sterilisation von Wasser. 297
—, Wirkung auf Bac. coli communis. 513
—, Wirkung auf Bakterien. 509

Pankreaspräparate, Verstärkung der Hefegärung. 557
Paraplectrum foetidum, Zersetzung der Milch. 644
Passiflora coerulea, Parasit auf Evonymus japonicus. 291
Passionsblume s. Passiflora coerulea.
Pasteurisieren der Milch, Einfluß auf Säuregrad und Keimgehalt. 564
Pediococcus, Wachstum. 558
— viscosus, Ursache des Fadenziehendwerdens des Weißbieres. 551
Penicillium, Wirkung auf gegerbtes Leder. 245
— glaucum, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 329. 417
— —, Rolle bei der Obstfäulnis. 245
— —, Vorkommen im Rohzucker. 564
— —, Vorkommen im Soyakoji. 104
Pepsin, Nachweis. 370. 480

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Peridermium-Arten, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 235
— Cedri, Schädling der Zedern in Indien. 236
Peronospora viticola, Rebenschädling, Bekämpfung. 303
Perrisia capsulae Kieff., Gallenbildung an Euphorbien. 582
— daphnes, Gallenbildung an Daphne Laureola. 581
Peziza aeruginosa, Grünfärbung des Holzes. 272
— Fuckeliana, Beziehung zu Botrytis cinerea. 283
Pflanzen, Abbau und Aufbau organischer Stickstoffverbindungen. 567
—, Atmungsenzyme. 785
—, Einfluß verschiedener Faktoren auf die Struktur. 580
—, Entwickelung bei Ernährung mit bestimmten organischen Substanzen. 579
—, Nutzbarmachung des Stickstoffes. 264
—, Vergrünung der Blüten durch Insekten. 580
—, Wirkung von Nitrit. 566
Pflanzenkrankheiten in Indien im Jahre 1904—1905. 234
— in den Kolonieen, Bekämpfung. 302
Pflanzenschutz in den Kolonieen, Aufgabe. 301
Pflanzenschutzstation in Wien, Tätigkeitsbericht für das Jahr 1905. 300
Phalera bucephala, Einfluß der Wärme auf deren Raupen. 41
Phoma betae, Schädling der Zuckerrübe. 277
Phosphorsäure, Löslichmachung durch Bodenbakterien. 570
Phosphorverbindungen, organische, im Weine. 809
Photographie von Bakterienkulturen. 412
Phyllosticta bacteroides Vuill. n. sp. auf Lindenblättern, Diagnose. 290
Physoderma, Parasit des Muscari comosum. 576
Phytophthora, Schädling der Betelpalme. 237
— infestans, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 234
Phytoptus pini Nalepa, Bildung von Zweiggallen. 291
— vitis, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1905. 303
Pigment s. a. Farbstoff.
Pilze, Assimilation des Luftstickstoffes. 266
—, niedere, Form und Bau der Kolonieen. 65. 129. 321. 417. 593
—, Schimmel- s. a. Schimmelpilze.
—, Sproß- s. Sproßpilze.
—, Zerstörung von Xylan. 271
Pilzgifte, Entstehung und Zweck des Giftes. 237
Pilzhyphen, Säureausscheidung. 260
Pinus Strobus, Hexenbesenbildung. 291
Pionnotes Cesatii (Thüm.) Sacc., Schädling des Weinstockes. 289
Plasmodiophora Brassicae, Rolle der Bakterien in ihrer Entwickelung. 576
Plasmoptyse bei Bakterien. 237. 238
Plusia, Schädling der Zuckerrübe. 277
Plutella maculipennis, Schädling des Kohles. 300
Pollinia Pollini, Schädling der Olivenpflanzungen. 301
Polyporus, Luftmycelbildung. 270
— nigricans, Wirkung auf Xylan. 271. 272
Preßhefe s. Hefe, Preß-.
Preßhefenvegetation, Mykologie. 553
Propionsäurebakterien s. Bakterien, Propionsäure-.
Propionsäuregärung s. Gärung, Propionsäure-.
Proteus, Isolierung aus dem Boden. 522
— mirabilis, Rolle in der Gerberei. 244
— vulgaris, Rolle in der Gerberei. 244
— —, Wirkung von Calciumsalzen. 811
— Zopfii, Vorkommen im Schabzieger. 227
Prünellen, Zweck des Schwefelns. 301
Pseudomonas aeruginosa, Morphologie und Biologie. 356
— coli, Untersuchungen. 756
— dermatogenes n. sp. Fuhrmann, Vorkommen im Flaschenbiere. 361. 453
— —, Wachstum auf anorganischer Nährlösung. 457
— —, Wachstum in Bier. 462
— —, Wachstum auf festen Nährböden. 362. 453
— —, Wachstum auf flüssigen Nährböden. 453
— fluorescens, Morphologie und Biologie. 356. 359
— myxogenes n. sp. Fuhrmann, Vorkommen im Flaschenbiere. 462. 615
— —, Wachstum auf anorganischer Nährlösung. 615
— —, Wachstum in Bier. 618
— —, Wachstum auf festen Nährböden. 463
— —, Wachstum auf flüssigen Nährböden. 465
Pseudovakuolen in Hefezellen. 8. 91. 147 345. 689
Psilura monacha L., Fraßeigentümlichkeiten. 815
Puccinia annularis (Strauß) Schlecht, Biologie, Infektionsversuche. 681
— Brunellarum - Moliniae n. sp. Cruchet, Entwickelungskreis. 505
— —, Infektionsversuche. 503
— —, Morphologie. 505. 674
— Glechomatis DC, Biologie, Infektionsversuche. 679
— glumarum, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 235
— graminis, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 235
— Liliacearum Duby, Entwickelung. 206
— Menthae Pers., Entwickelungskreis. 498
— —, Infektionsversuche mit Aecidiosporen von Mentha longifolia. 220
— —, Infektionsversuche mit Aecidiosporen

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Satureya Calamintha ssp. silvatica. 405
Puccinia Menthae Pers., Infektionsversuche mit Sporen von Mentha aquatica L. 399
— —, Infektionsversuche mit Sporen von Mentha arvensis L. 397
— —, Infektionsversuche mit Sporen von Mentha piperita var. citrata Ehrb. 403
— —, Infektionsversuche mit Sporen von Mentha viridis L. var. piperella Lej. 396
— —, Infektionsversuche mit Sporen von Satureya Calamintha ssp. Nepeta. 406
— —, Infektionsversuche mit Teleutosporen von Mentha longifolia. 217
— —, Infektionsversuche mit Teleutosporen von Satureya Calamintha ssp. silvatica. 405
— —, Infektionsversuche mit Teleutosporen von Satureya Clinopodium Spenn. 403
— —, Infektionsversuche mit Uredosporen von Satureya acinos. 406
— —, Infektionsversuche mit Uredosporen von Satureya Calamintha ssp. silvatica. 406
— —, Infektionsversuche mit Uredosporen von Satureya alpina. 407
— —, Infektionsversuche mit Uredosporen von Satureya Clinopodium Spenn. 403
— —, Infektionsversuche mit Uredosporen von Mentha longifolia. 222. 395
— —, Morphologie der einzelnen Formen. 411. 497
— —, Spezialisierung. 216
— —, Wirkung auf die Wirtspflanzen. 499
— Moliniae (Tul.) Rostrup, Morphologie. 676
— nemoralis Juel, Morphologie. 505. 675
— Penniseti, Ursache des bajra-Rostes in Indien im Jahre 1904/05. 235
— purpurea, Ursache des juar-Rostes in Indien im Jahre 1904/05. 235
— Stachydis DC, Biologie, Infektionsversuche. 682
— Stipae (Opiz) Héra, Biologie, Infektionsversuche. 679
— triticina, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 235
Puccinien auf Labiaten, Biologie. 212. 395. 497. 674
Radiobacter, Assimilation von Stickstoff im Boden. 263
Ranunculaceen, Wirte von Aecidien. 208
Rebenstecher s. Rhynchitis betuleti.
Reifung des Edamer Käses, Rolle der Bakterien. 491
Reinigung, biologische, des Abwassers. 295. 298. 785
Reinzucht, natürliche, Beiträge. 786
Reinzuchthefe, Versuche. 559
Reiswein, chinesischer, Mykologie. 552
Rhacodium cellare Pers., Morphologie und Biologie. 250
Rhizoctonia violacea, Schädling der Zuckerrübe. 277
Rhizopus japonicus Vuillemin nov. var. angulosporus im Soyakoji, Morphologie und Biologie. 102
Rhizopus nigricans, Rolle bei der Birnenfäulnis. 245
— Tamari n. sp. Saito im Tamarikoji, Biologie. 158
Rhopalomyia Valerii, Gallenbildung an Juniperus Oxycedrus. 581
Rhopalosiphon Xylostei Schrank, Veränderungen der Geschlechtsorgane von Lonicera Periclymenum. 577
Rhynchitis betuleti, Auftreten in Oesterreich im Jahre 1905. 303
Rhynchophorus ferrigineus, Schädling der Kokosnußpalme. 293
Röte des Weinstockes, Ursache. 579
Roggen, Auftreten von Mutterkorn. 274
Rohzucker, bakteriologische Untersuchungen. 563
Rosellinia, Ursache der Wurzelerkrankung bei Kaffee und Tee. 236
— bunodes, Schädling des Pfeffers in Indien. 236
Rotschwanz s. Dasychira pudibunda L.
Rüben, Schoß-, Stengelbildung. 275
Rübe, Wanderung des Zuckers. 275
Rübensamen, Erfolge der Schäl- und Desinfektionsmethode. 303
Saatkrähe s. a. Corvus frugilegus.
Saccharomyces s. a. Hefe.
— apiculatus, Flockenbildung in der Preßhefenfabrikation. 554
— —, Morphologie und Physiologie einiger Rassen. 558. 815
— —, Schädigung des Bieres. 551
— cerevisiae, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 328
— —, Lebensenergie in den Kolonieen. 134
— —-Arten, Struktur der Kolonieen. 426. 593
— farinosus Lindner in der Soyamaische, Morphologie und Biologie. 108
— Pasteurianus, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 328
— —, Schädigung des Bieres. 550
— Soya n. sp. Saito in der Soyamaische, Morphologie und Biologie. 104
— —, Vergleichung mit anderen Arten. 105
Saccharomyceten s. a. Hefen.
—, Morphologie und Entwickelungsgeschichte. 241
—, Ursprung. 555. 578
Saccharophobie bei Bakterien. 446
Säure, schweflige, Einfluß auf Entwickelung und Haltbarkeit der Obstweine. 11. 224
Säureausscheidung bei Pilzhyphen. 260
— bei Wurzeln. 259
Säurebildung bei Sproßpilzen ohne Sporenbildung. 699
Saké, japan., Mykologie. 552
Salpetersäure im Boden, Einfluß der Bakterien auf ihre Metamorphose. 571
Samen, Einfluß der Nährsalzimprägnation auf deren Keimung. 268. 269.
—, Ursache und Beseitigung ihrer Keimungshemmungen. 574

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Santalum album, Krankheit, Vorkommen in Indien. 236
Sarcina alba, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 449
— —, Rolle in der Gerberei. 244
— aurantiaca, Rolle in der Gerberei. 244
— flava, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 450
— —, Form der Kolonieen. 71
— Hamaguchiae n. sp. Saito im Soyakoji und -maische, Morphologie und Biologie. 155
— lutea, Form der Kolonieen. 328
— —, Vorkommen im Żur. 378
Sarcina-Art, Vorkommen im Soyakoji. 156
Sarcinafrage. 558
Sarcinekrankheit des Bieres, Wesen. 551
Schabzieger(käse), Buttersäuregärung. 225
Schimmelpilze, Assimilation des Luftstickstoffes. 266
—, Rolle bei der Soyabereitung. 26. 101
—, Struktur der Kolonieen. 599
Schizophyllum commune, Ursache der Zuckerkrankheit in Indien im Jahre 1904/05. 235
Schizosaccharomyceten, Morphologie und Entwickelungsgeschichte. 241
—, Ursprung. 556
Schleim, Bildung in den Kolonieen. 132
Schnellessigbakterien s. Bakterien, Schnellessig-.
Schwarzbeinigkeit des Tabaks, durch Bac. nicotianae verursacht. 278
Schwarzfäule der Aepfel, durch Sclerotinia fructigena verursacht. 175
Schwefeln des Obstes, Zweck. 301
Schwefelwasserstoffbildung bei Sproßpilzen ohne Sporenbildung. 707
Sclerotinia Ariae auf Sorbus Aria, Morphologie und Biologie. 196
— Aucupariae, Unterschiede gegen Sclerotinia Aria. 196
— Cydoniae, Unterschiede gegen Sclerotinia Mespili. 189
— fructigena, Fruktifikation unter verschiedenen Bedingungen. 179
— —, Ursache der Schwarzfäule der Aepfel. 175
— Fuckeliana, Beziehung zu Botrytis cinerea. 283
— Libertiana (Fuckel), Schädling von Forsythia intermedia und suspensa. 277
— Mespili auf Mespilus germanica, Morphologie und Biologie. 188
Scolopendra, Schädling der Zuckerrübe. 276
Senf, Zersetzung durch Bakterien. 258
Septogloeum Arachidis, Schädling der Erdnuß in Indien. 236
Sesia flaviventris Stdgr., Lebensweise. 585
Silpha, Schädling der Zuckerrübe. 276
Soya, Technik der Herstellung. 21
Soyabereitung, Isolierungsmethode der Mikroorganismen. 24. 101
—, mikrobiologische Studien. 20. 101. 152
Soyahefe s. Saccharomyces Soya.
Soyakahmhefe in der Soyamaische, Morphologie und Biologie. 108. 152
Sphaceloma ampelinum, Schädling der Reben in Indien. 237
Sphaeronema adiposum, Vorkommen in Indien im Jahre 1904/05. 235
Sphaerotheca mors uvae (Schwein.) Berkely, Stachelbeerpest, Ausbreitung in Europa im Jahre 1906. 764
Sphenoptera gossypii, Schädling der Baumwolle. 293
Spirillum concentricum, Form der Kolonieen. 328
Sporenbildung bei Hefen. 555. 578
—, fehlende, bei Sproßpilzen im Brauereibetrieb. 1. 3. 75. 137. 331. 428. 604. 693
Sporodina grandis, Kernverschmelzung. 812
Sproßpilze ohne Sporenbildung, alkoholische Gärung in gehopfter Bierwürze. 693
— — im Brauereibetrieb und dessen Umgebung. 1. 3. 75. 137. 428. 604. 693
— — im Brauereibetrieb, spezielle Morphologie. 81
— —, Glykogenbildung. 695
— —, Morphologie. 1. 3. 75
— —, Säurebildung und Säureverzehrung. 699
— —, Schwefelwasserstoffbildung. 707
— —, Temperatureinfluß. 334. 428
— —, Verflüssigung von Würzegelatine. 704
— —, Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten. 610
— —, Wachstum in Bier. 142. 331
— —, Wachstum auf festen Nährböden. 429. 604
— —, Wachstum in Milch. 333
— —, Wachstum in Nährflüssigkeiten. 86. 137. 331. 428
— —, Wachstum in Würze-Tröpfchenkulturen. 86
— —, Wachstumsform der Einzelkolonieen. 429
— —, Wachstumsform in Riesenkolonieen. 435. 604
— —, Wachstumsform in Stichkulturen. 434
Stachelbeerpest, durch Sphaerotheca mors uvae verursacht, Ausbreitung in Europa im Jahre 1906. 764
Stärkehydrolyse, diastat., Maltodextrin γ als Zwischenprodukt. 559
Stengelbildung bei Schoßrüben. 275
Sterilisation von Trinkwasser durch Chemikalien. 296
— von Wasser durch Ozon. 297. 506
Stickstoff, Assimilation durch Algen und Schimmelpilze. 266
—, Assimilation durch Azotobacter und Radiobacter. 262
—, Assimilation durch Bakterien. 259. 261. 262. 264. 266. 267
—, Bindung durch Bakterien. 568. 569
—, Luft-, Nutzbarmachung mittels Elektrizität. 565. 566

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stickstoffbereicherung des Bodens während der Brache. 571
Stickstoffverbindungen, organische, Abbau und Aufbau in den Pflanzen. 567
Stickstoffverluste im Boden bei Düngung mit Chilisalpeter. 27
Stinkschrecke s. Zonocerus elegans.
Strahlen, ultraviolette, Wirkung auf Milch. 815
Streptococcus acidi lactici Grotenfeld s. a. Bakterien, Milchsäure-.
— agalactiae, Verwandtschaft mit Bacterium Güntheri. 725
— lacticus s. a. Bakterien, Milchsäure-.
Streptokokken, Form der Kolonieen. 129. 131
—, Galt-, Verwandtschaft mit Bacterium Güntheri. 725
Tabakfabrikation. Mykologie. 243
Tabakpflanze, Schutz gegen den Brand „Nielle". 813
Tabakwelkkrankheit, durch Bac. nicotianae verursacht. 278
Tamari = Salzungsmittel. 158
Teestrauch, Krankheiten in Indien. 236
Temperatur, Einfluß auf die Fruktifikation von Sclerotinia fructigena. 179
—, Einfluß auf Sproßpilze ohne Sporenbildung. 334. 428
—, Einfluß auf die Wachstumsrichtung der Bakterien. 56
Tetranychus telarius, Schädling der Stachys-Anpflanzungen. 301
Thermobacterium - Art, Vorkommen im Soyakoji. 156
Thermostat für niedrige Temperatur. 684
Thieghemella hyalospora n. sp. Saito im Soyakoji, Morphol. u. Biol. 103
Tieghemella japonica im Soyakoji. 104
— Orchidis Vuillemin im Soyakoji. 104
Thielaviopsis ethaceticus, Ursache der „Ananaskrankheit". 235
Tibi, Mykologie. 552
Tilia, Wirt von Cerospora, Phyllosticta, Helminthosporium. 290
—, Wirt von Erineum tiliaceum. 291
Tipula pratensis, Schädling der Zuckerrübe. 276
Tomicus typographus, Einfluß von Leinwandsäcken bei künstl. Zuchten. 814
— — L., Vorkommen in Herrenwies und Pfullendorf i. J. 1905. 814
Tortrix pilleriana, Einfluß der Wärme auf deren Raupen. 40
Torula, rote, Anpassung an hohe Zuckerkonzentrationen. 451
—, Schädigung des Bieres. 551
— -Art i. d. Soyamaische, Morphol. u. Biol. 153
— -Arten, Form der Kolonieen unter dem Einflusse des Lichtes. 328
Toxoptera theobromae, Schädling des Kakaobaumes. 293
Trametes Pini auf Pinus excelsa in Indien. 236
Trametes Pini, Vertikalverbreitung u. Vorkommen an verschiedenen Holzarten. 812
Trichosporium, Schädling der Casuarinenpflanzungen in Indien. 236
Trinkwasser s. Wasser, Trink-.
Trypsin, durch Bakterien gebildet. 370. 480
—, Nachweis. 370. 480.
Turgorregulation von Hefezellen. 239
Ultraviolette Strahlen, Wirkung auf Milch. 815
Uredineen, Entwickelungsgeschichte. 203
— auf Euphorbien und Hypericum, Infektionsversuche. 210
—, parasitische, Vorkommen in Indien i. J. 1904/05. 235
—, Vorkommen in Australien. 272
Uredo Tectonae, Ursache des Teakholzrostes in Indien i. J. 1904/05. 235
Uromyces-Arten, Vorkommen auf Bauhinia. 274
— — Vorkommen in Indien i. J. 1904/05. 235
—, graminis, Beziehung zu Aecidium Seseli Niessl. 203
— —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 203
— verruculosus Berk. et Br., Vorkommen auf Bauhinia tomentosa. 274
Uromycladium alpinum n. sp. Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
— bisporum n. sp. Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
— maritimum n. sp. Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
— notabile (Ludw.) Mc Alp., Vorkommen in Australien. 272
— Robinsoni n. sp. Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
— simplex n. sp. Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
— Tepperianum (Sacc.) Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 272
Vakuolen, Pseudo-, in Hefezellen. 8. 91. 147. 345. 689
Valsa salicina auf Weiden. 300
Vibrio proteus, Plasmoptyse. 239
Wachholder s. Juniperus.
Wärme, Einfluß auf Insektenlarven. 40
Wasser, Einfluß hohen Kohlensäuredruckes auf die Bakterien in ihm. 587
—, Industrie-, Sterilisation durch Ozon. 297
—, Klärung durch Kupfersulfat. 298
— für Molkereizwecke, Untersuchung. 256
—, Reinigung durch Ozon. 506
—, Trink-, Sterilisation durch Chemikalien. 296
— —, Sterilisation durch Ozon. 297
Wasserstoff, Oxydation durch Bakterien. 350
Wasserstoffsuperoxyd, diastatische Katalyse. 546
Wein, Gehalt an Lecithin. 809. 810
—, Gehalt an organischen Phosphorverbindungen 809
—, Malton-, Mykologie. 552

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wein, Nachweis von Nitraten. 810
—, Phosphatieren. 809
—, Ursache des Zähewerdens. 253
—, Verbesserung. 809
Weinbereitung, wissenschaftl. Grundlagen. 252
Weinblattmilbe s. Phytoptus vitis.
Weine, Obst-, Einfluß der schwefligen Säure auf ihre Entwickelung und Haltbarkeit. 11. 224.
Weinessigbakterien s. Bakterien, Weinessig-.
Weinstock, Anthraknose, durch Manginia ampelina verursacht. 578
—, durch Botrytis cinerea geschädigt. 280
—, durch Pionnotes Cesatii (Thüm.) Sacc. geschädigt. 289
—, Schädigung durch zu starken Fruchtertrag. 579
—, Ursache der „Röte" (rougeot). 579
Weißbierbrauerei, Zukunft. 560
Weizenrost, Vorkommen in Indien i. J. 1904/05. 235
Wohnungsmilbe s. Glycyphagus domesticus. 294
Wurzeln, Säureausscheidung. 259
Xylan, Zerstörung durch Pilze. 271. 272
Zähewerden der Weine, Ursache. 253
Zelle, Hefe-, Anatomie. 242
Zelle, Hefe-, Turgorregulation. 239
Zingiber officinale, durch Bakterien geschädigt. 383
Zonocerus elegans Thimb., Schädling der Kaffeepflanzungen. 582
Zucker, Roh-, bakteriolog. Untersuchungen. 563
—, Wanderung in der Rübe. 275
Zuckerrohrkrankheiten in Indien i. J. 1904/05. 235
Zuckerrübe s. a. Rübe.
—, Schädlinge. 276
Zuckersynthese, Versuche. 560
Żur, Mehlteiggärung. 376
Zygosaccharomyceten, Ursprung. 556

## III. Verzeichnis der Abbildungen.

Abwasser, Reinigung durch Ozon, Einrichtungen. 507. 508
Azotobacter chroococcum, Vergärung des Mannits. 164
— —, Wirkung des Kalkes auf das Wachstum. 116
Bacillen, Form der Kolonieen. 131
Bacillus lactis albus, Form der Kolonieen. 130
— — —, Schnitt durch eine tiefliegende Kolonie (Taf. I, Fig. 1). 604
— megatherium, Schnitt durch eine Kolonie (Taf. III, Fig. 12). 604
— pabuli acidi, Form der Kolonieen. 70
— prodigiosus, Form der Kolonieen. 70. 73.
— pseudoramosus, Form der Kolonie (Taf. I, Fig. 2—3). 604
— solanisaprus, Geißeln (Taf. VIII, Fig. 17). 394
— —, Infektionsversuche an Kartoffeln u. anderen Pflanzen (Taf. I—V, Fig. 1—8). 394
— —, Involutionsformen (Taf. VIII, Fig. 16). 394
— —, Kulturen (Taf. V, Fig. 9, Taf. VII, Fig. 14. 15). 394
— subtilis, Form der Kolonie (Taf. I, Fig. 4). 604
— —, Schnitt durch eine Kolonie (Taf. III, Fig. 11). 421. 604
— typhi murium, direkte Kopie auf photograph. Papier. 414
— Zopfii, Einfluß mechanischer Kräfte auf die Wachstumsrichtung (Taf., Fig. 2). 56. 57. 58. 59
— —, Einfluß der Temperaturunterschiede auf die Wachstumsrichtung (Taf., Fig. 1). 56
Bacillus Zopfii, Wachstumsrichtung auf schräger Nährgelatine. 55. 63
Bacterium coli, Form der Kolonie (Taf. I, Fig. 5). 70. 604
— Soya in der Soyamaische (Taf. V, Fig. 9). 160
—, direkte Kopie auf photograph. Papier. 413. 416
—, Oxydation des Wasserstoffes, Untersuchungsmethode. 352
Hefe, Soyakahm- (Taf. II, Fig. 3 u. Taf. V, Fig. 8 b). 160
Hefezellen, Pseudovakuolen (Taf. I u. II). 692
— —, Sichtbarmachung. 95. 98
Kartoffel, mit Bac. solanisaprus geimpft (Taf. I). 394
Micrococcus dermatogenes, Gelatinekultur (Taf., Fig. 12). 626
Milchanaëroben der Buttersäuregruppe (Taf. I u. II). 376
Mucorineen, direkte Kopie auf photograph. Papier. 415
Mycoderma-Art in der Soyamaische (Taf. III, Fig. 6 u. Taf. V, Fig. 8 d). 160
— -ähnlicher Organismus, Schnitt durch eine Kolonie (Taf. IV, Fig. 17). 604
— cerevisiae, Schnitt durch eine Kolonie. 593
Nitragin, Pflanzenversuche. 666. 668. 669 670. 671
Nitrokulturen, Pflanzenversuche. 666. 668. 669. 670. 671
Oidium lactis, Form der Kolonie (Taf. II, Fig. 7—8). 604
— —, Schnitt durch eine Kolonie (Taf. IV, Fig. 18). 604

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ozon zur Abwasserreinigung, Einrichtungen 507. 508
Penicillium glaucum, Form der Kolonie (Taf. II, Fig. 6). 604
Pseudomonas aeruginosa, Gelatinekultur (Taf., Fig. 1). 626
— dermatogenes, Agarkultur (Taf., Fig. 7). 626
— —, Geißelpräparat (Taf., Fig. 8). 626
— —, Gelatinekultur (Taf., Fig. 3, 5, 6). 626
— fluorescens, Gelatinekultur (Taf., Fig. 2). 626
— myxogenes, Agarkultur (Taf., Fig. 9, 10). 626
— —, Gelatinekultur (Taf., Fig. 4). 626
— —, Geißelpräparat (Taf., Fig. 11). 626
Puccinia Brunellarum-Moliniae n. sp. 674 u. (Taf.) 684
— Menthae, Entwickelung. 498
— —, Veränderungen an Mentha longifolia. 499
— Moliniae (Tul.) Rostrup. 678 u. (Taf.) 684
— nemoralis Juel. 676 u. (Taf.) 684
Rhizopus japonicus var. angulosporus, Morphologie (Taf. I, Fig. 1). 160
Saccharomyces, Schnitt durch eine Kolonie (Taf. III, Fig. 13—14, Taf. IV, Fig. 15—16). 604
— farinosus, Agarkultur (Taf. II, Fig. 2). 160
— Soya, Soyakojidekoktkultur (Taf. III, Fig. 4 u. Taf. V, Fig. 8a). 160
Sarcina Hamaguchiae in der Soyamaische. (Taf. V, Fig. 10). 160
Sclerotinia Ariae, Entwickelung (Taf. III u. IV). 202
— fructigena, Einfluß des Lichtes auf die Entwickelung. 176 (u. Taf. I u. II) 416
— —, Fruktifikationshyphen. 184
— —, Luftmycel. 177
— Mespili, Entwickelung (Taf. I u. II). 202
Soyakahmhefe (Taf. II, Fig. 3, Taf. V, Fig. 8b). 160
Sphaerotheca mors uvae auf Stachelbeeren. 765. 766
Sproßpilze ohne Sporenbildung, Morphologie der Zellen. 82. 83. 85. 86
— — —, Riesenkolonieen (Taf. I—III). 712
Stachelbeeren, von Sphaerotheca mors uvae befallen. 765. 766
Stachelbeerpest s. Sphaerotheca mors uvae.
Streptokokken, Form der Kolonieen. 131
Thermostat für niedrige Temperatur. 685. 686. 687
Tieghemella hyalospora, Reinkultur, Morphologie (Taf. IV, Fig. 5). 160
Torula, Form der Kolonie (Taf. II, Fig. 9—10). 604
— -Art in der Soyamaische (Taf. III, Fig. 7). 160
Wasserstoff, Oxydation durch Bakterien, Untersuchungsmethode. 352
Zingiber officinale, Bakterienkrankheit. 384

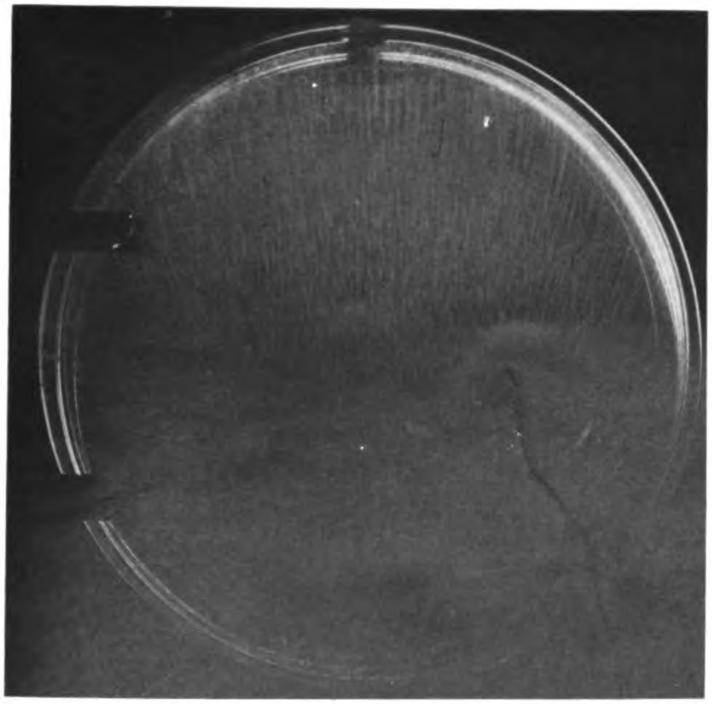
## IV. Neue Literatur.

304. 588.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Phot. 1. Phot. einer Kultur des B. Zopfii auf dicker Schicht 6-proz. Gelatine in vertikaler Lage; oben erwärmt (22 ° C), unten abgekühlt (12 ° C).



Phot. 2. Phot. einer Kultur des B. Zopfii in 6-proz. Gelatine, dicke Schicht, in vertikaler Lage. Die Infektion wurde vorgenommen, indem auf den Boden der Schale mit B. Zopfii infizierte, konzentrierte Nährgelatine gegossen wurde, welche nach dem Erstarren mit 6-proz. Gelatine überschichtet wurde.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**K. Saito**, *Mikrobiologische Studien über die Soyabereitung.*

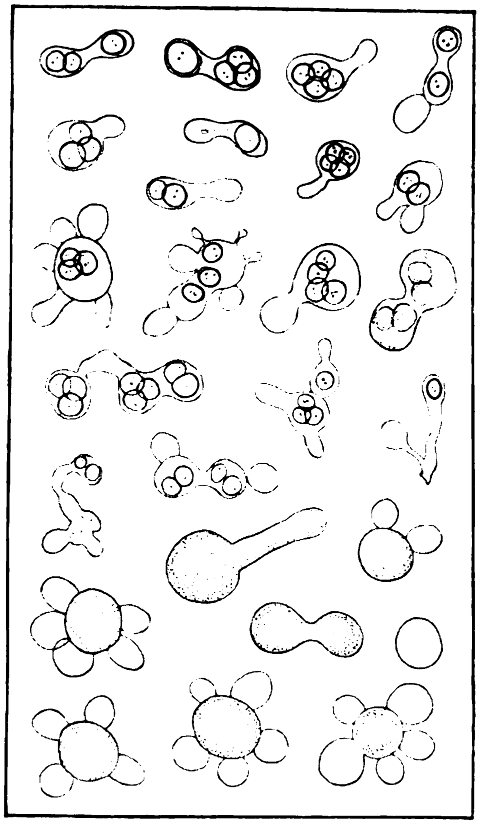


Fig. 4b.

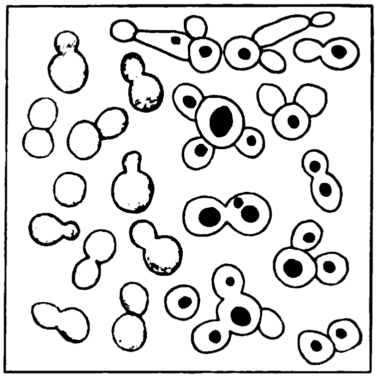


Fig. 7.

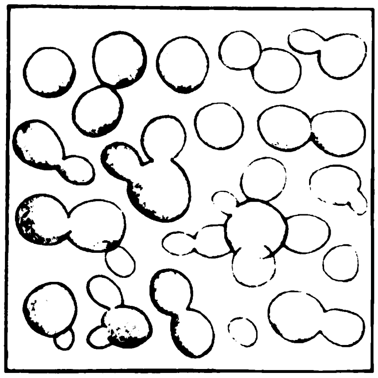


Fig. 4a.

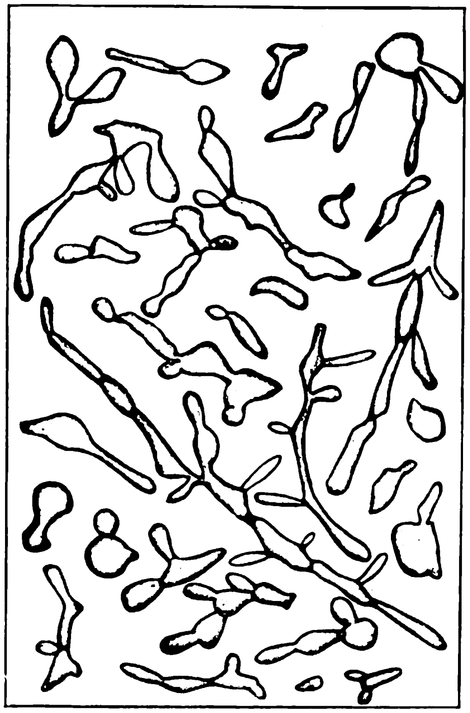


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

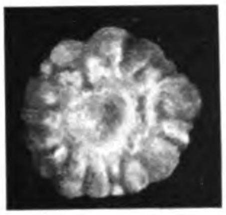


Fig. 8a.

Fig. 8b.

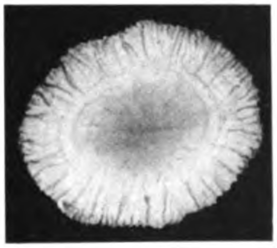


Fig. 8c.

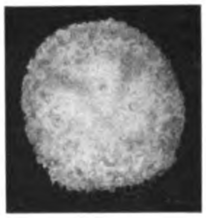


Fig. 8d.

Fig. 9.

Fig. 10.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

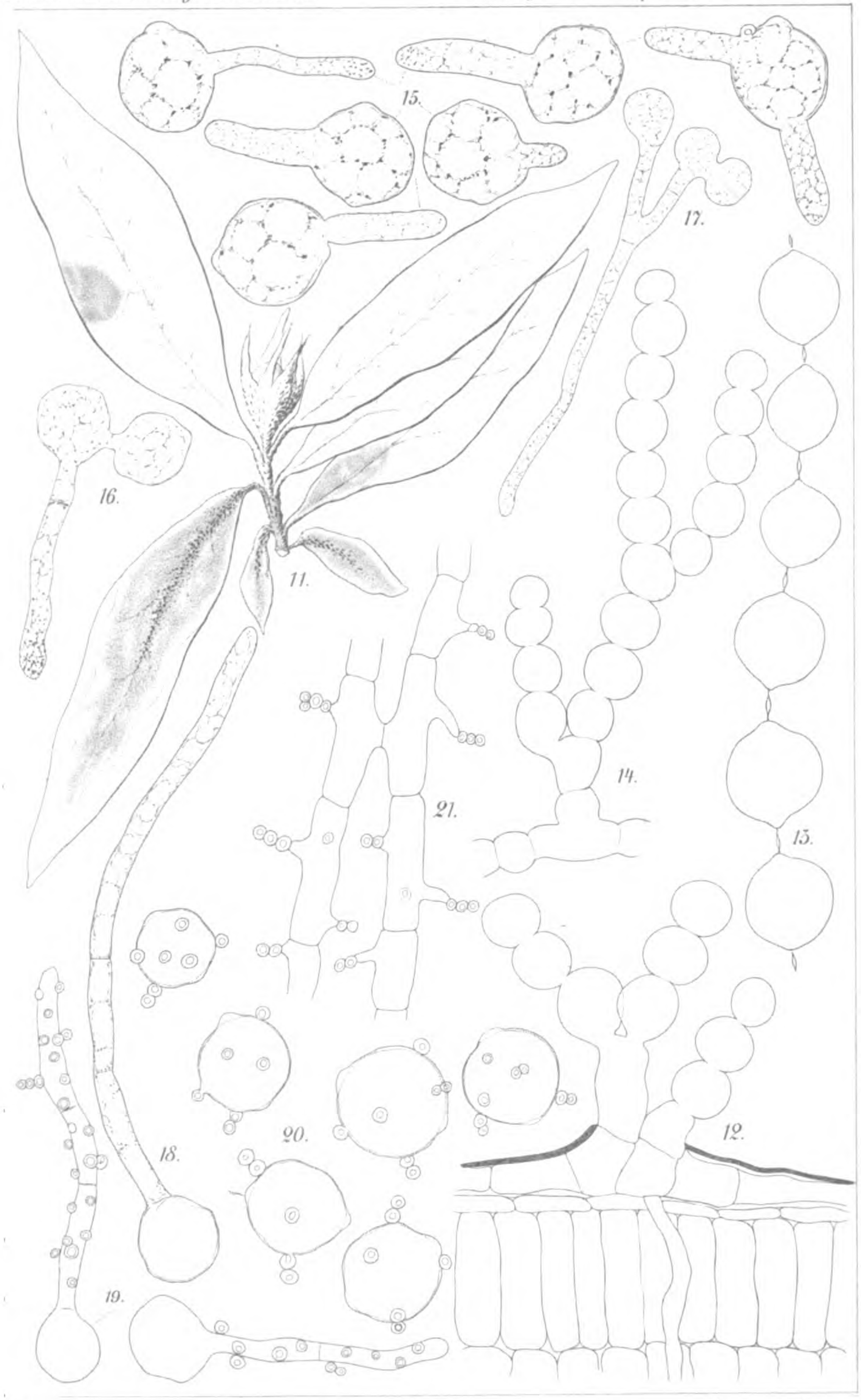
Gustav Fischer

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

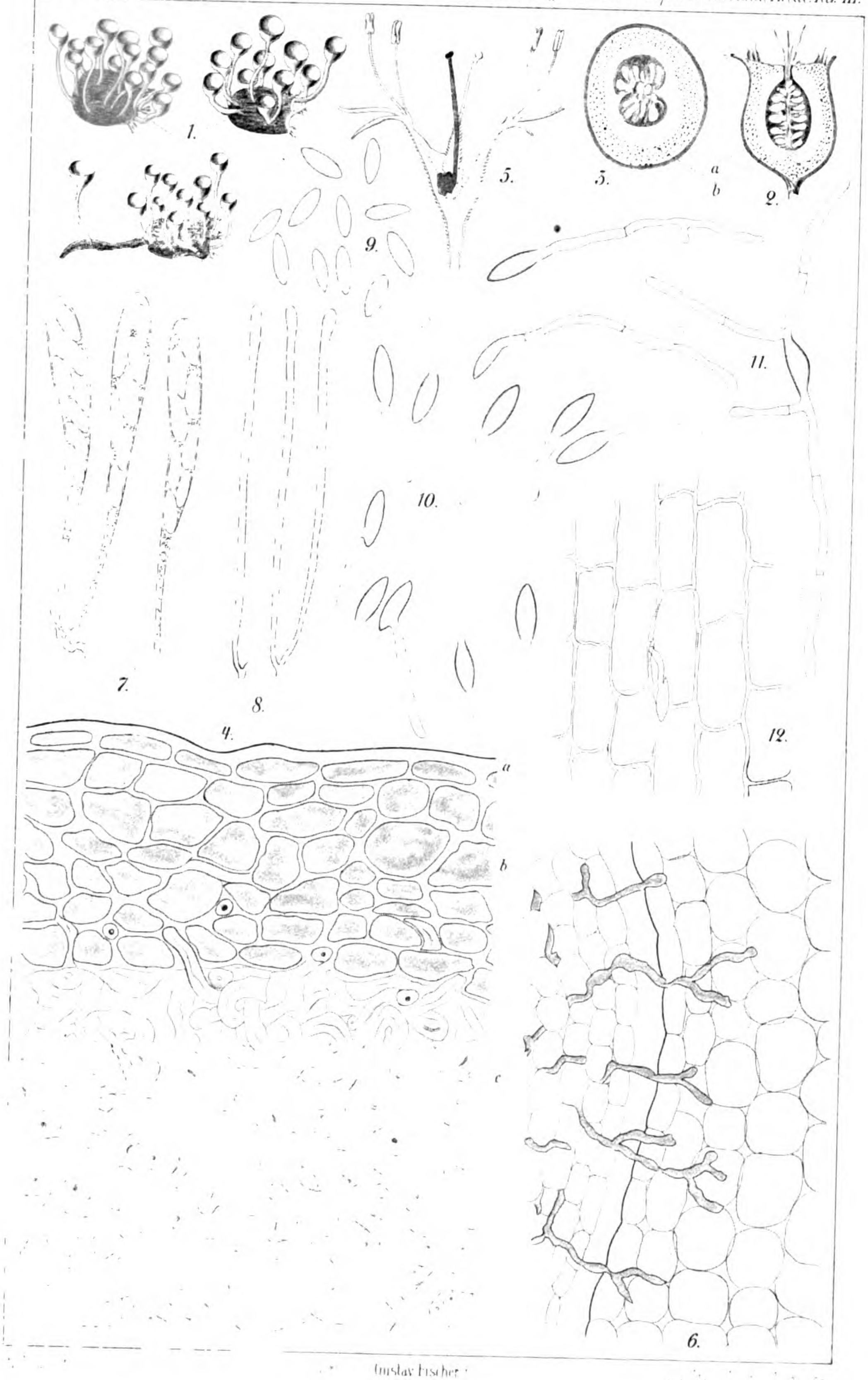
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY




Gustav Fischer

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

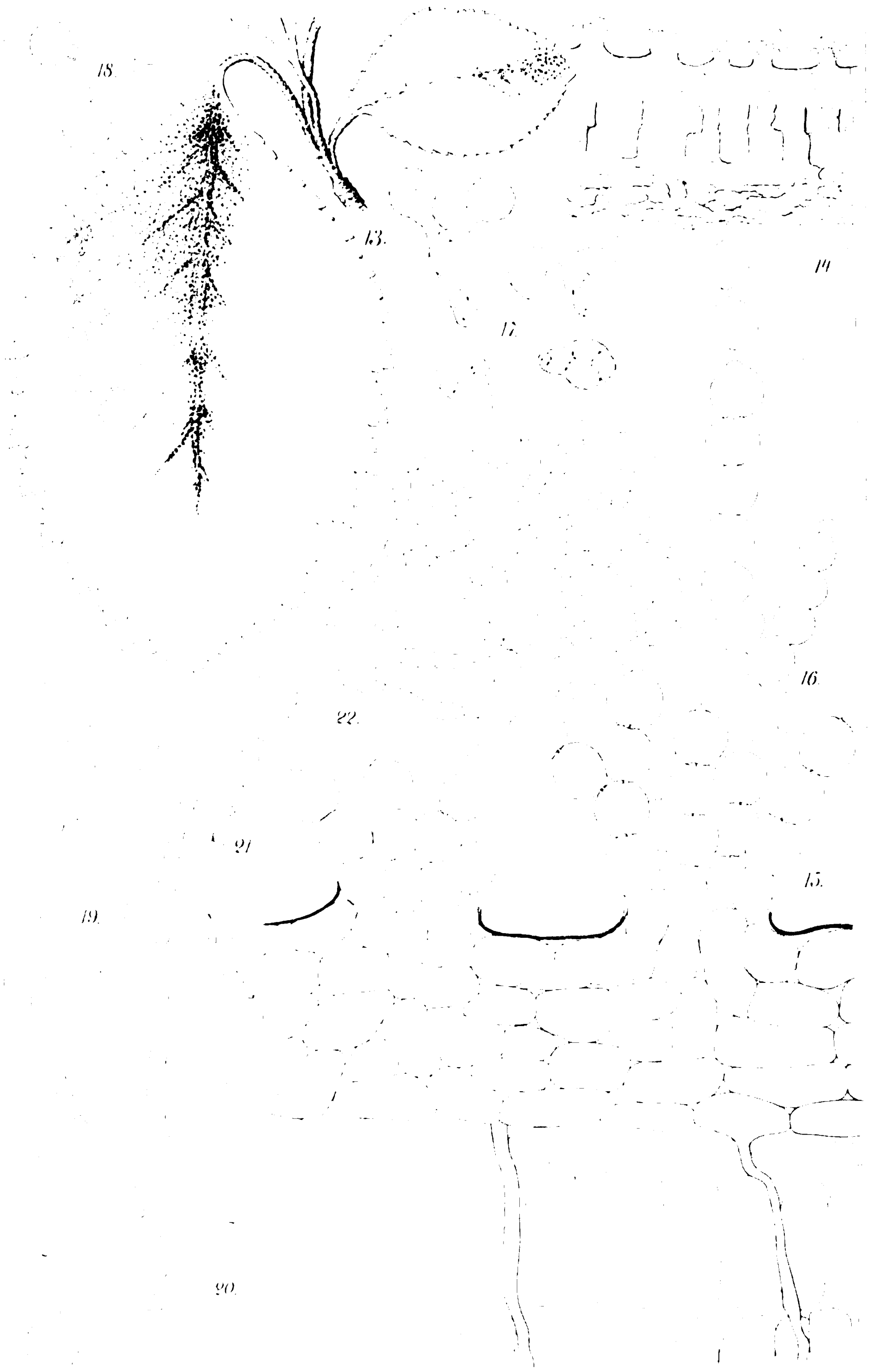
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY




Gustav Fischer

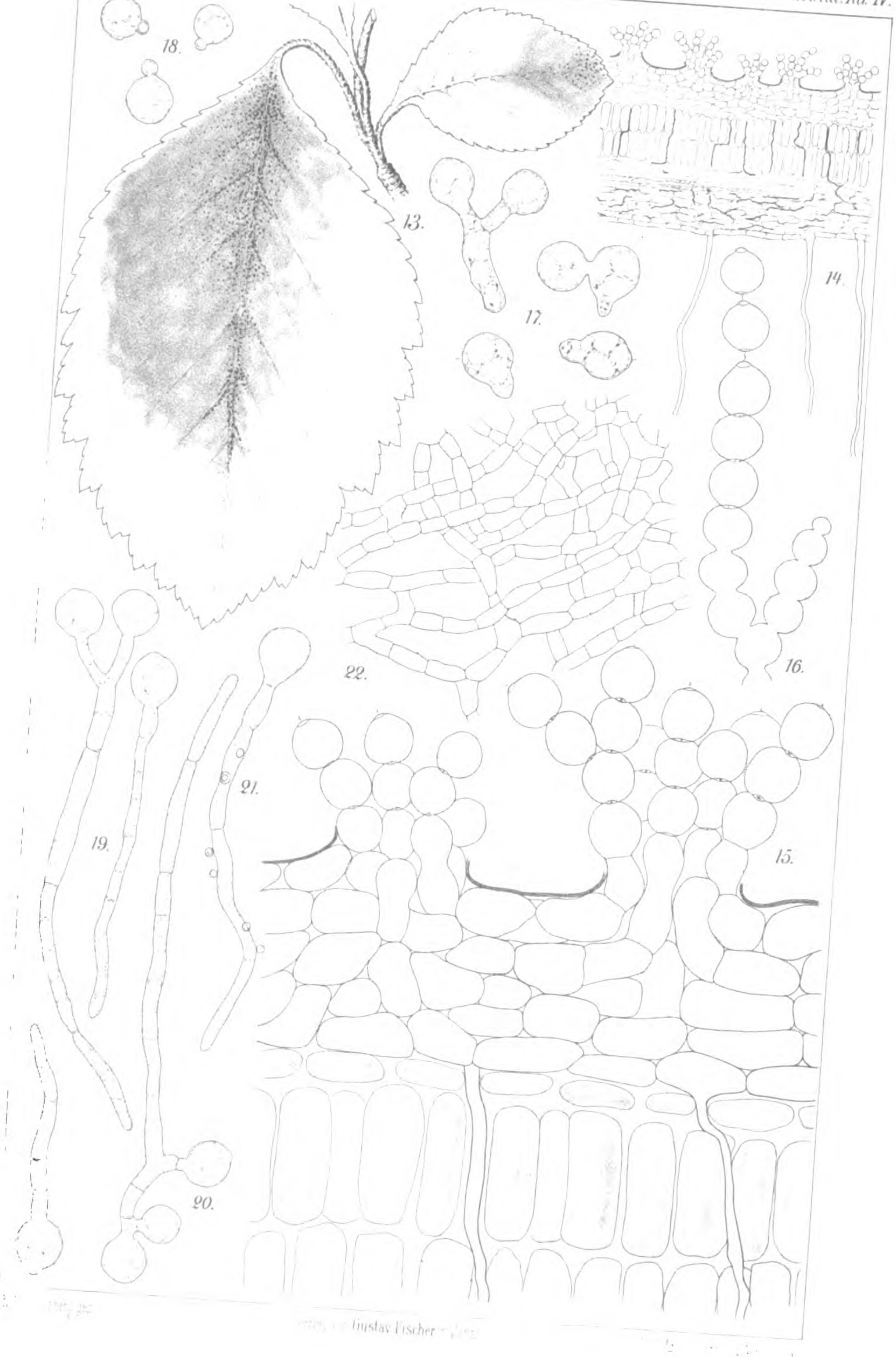
Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY




Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY




Verlag v. Gustav Fischer in Jena

Generated on 2019-09-21 16:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

**Antonio Rodella**, *Milchanaëroben der Buttersäure-Gruppe etc.*

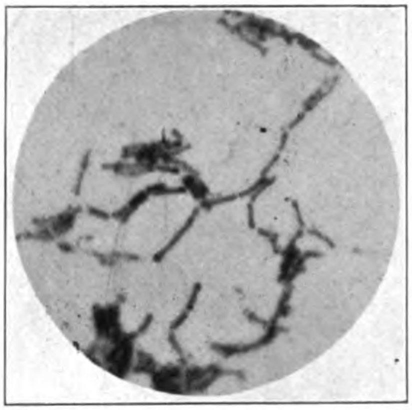


Fig. 1.

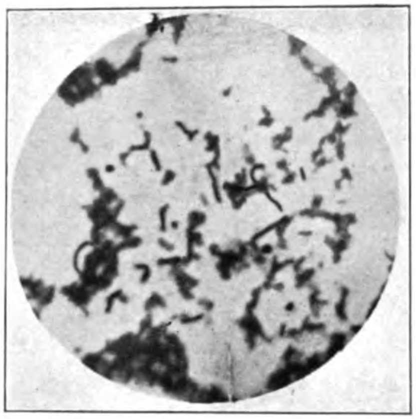


Fig. 2.

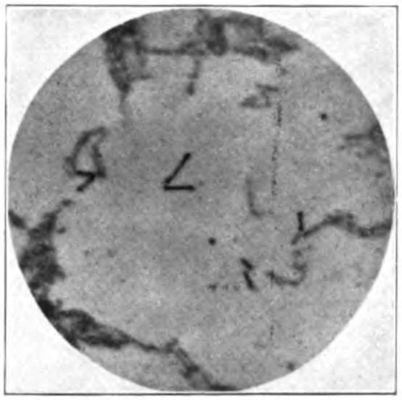


Fig. 3.

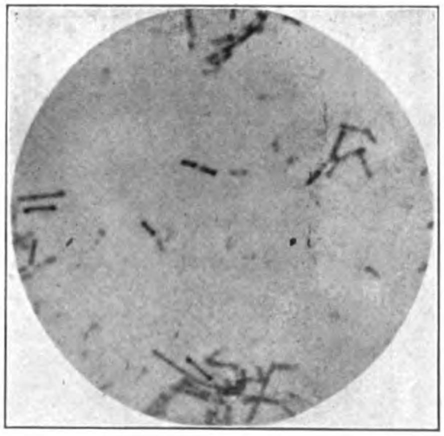


Fig. 4.

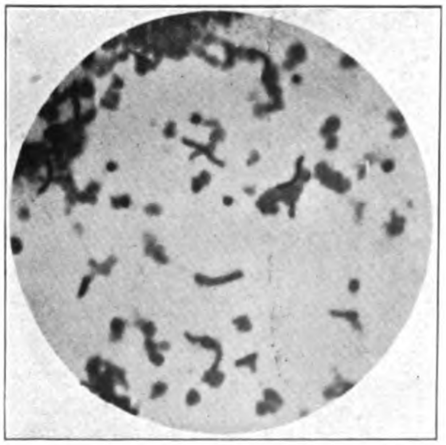


Fig. 5.

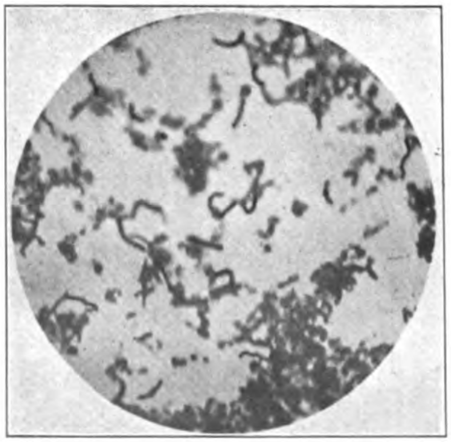


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**Antonio Rodella**, *Milchanaëroben der Buttersäure-Gruppe etc.*

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

***F. C. Harrison,*** *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

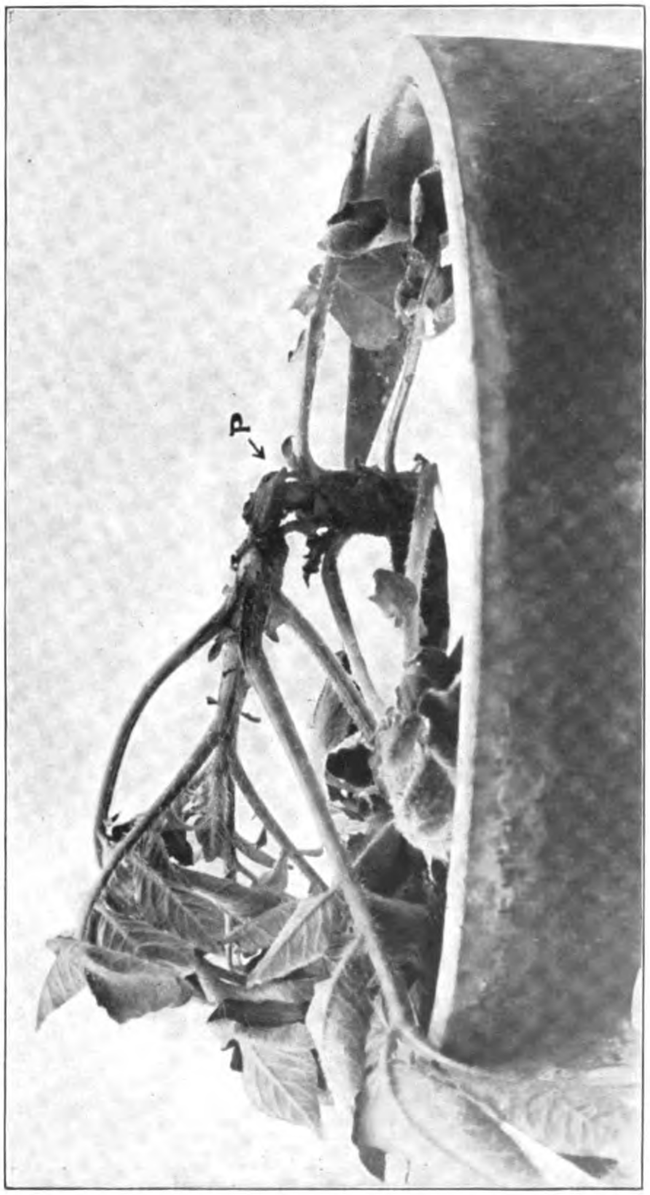



Fig. 1.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

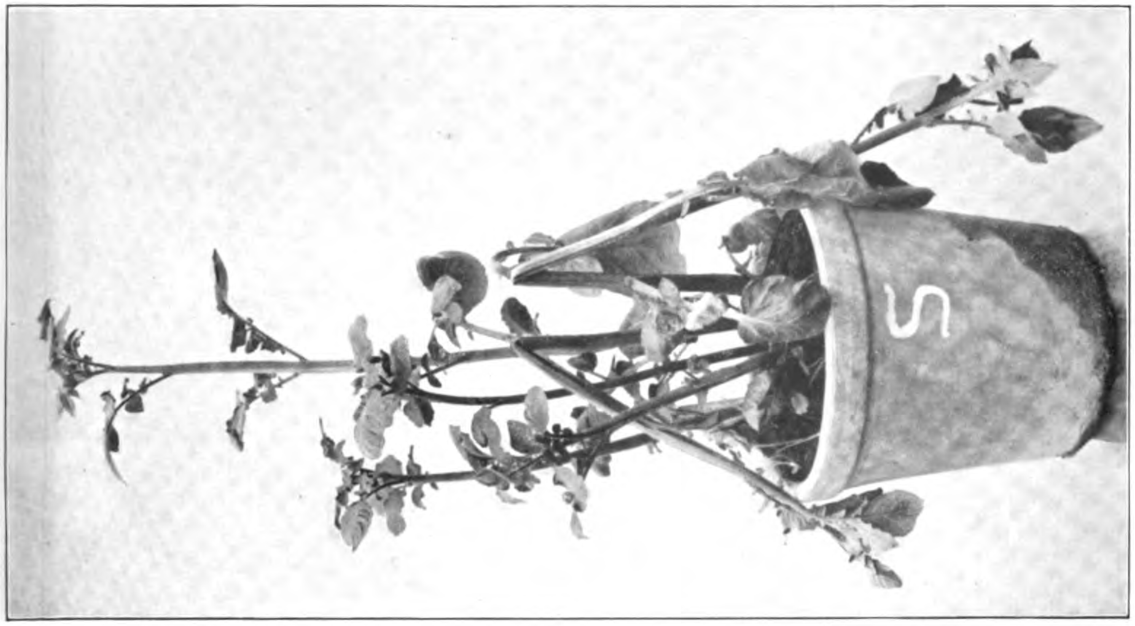
Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison,** *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

Fig. 3.





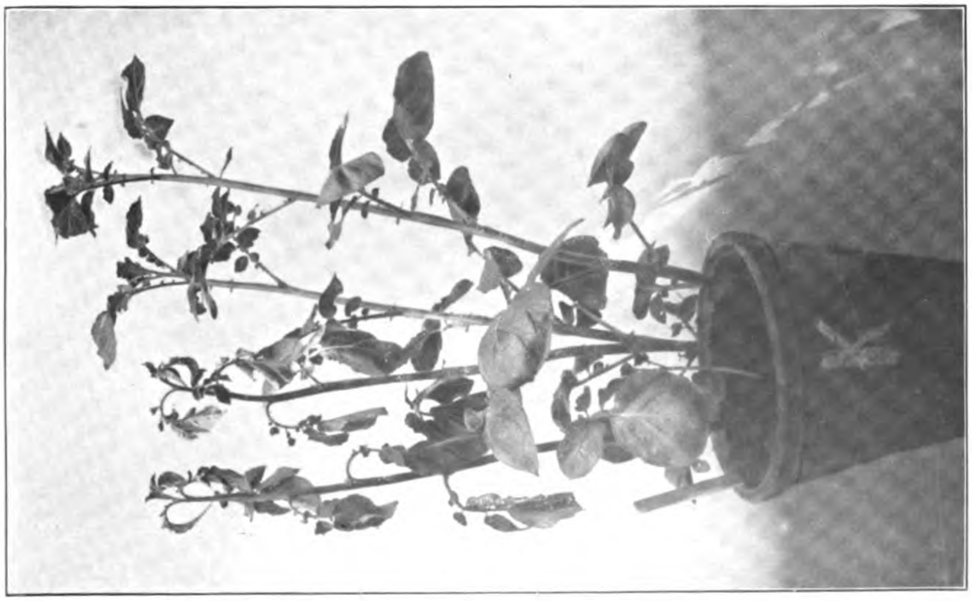




Fig. 2.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison**, *A bacterial rot of the potato caused by Bacillus solanisaprus.*

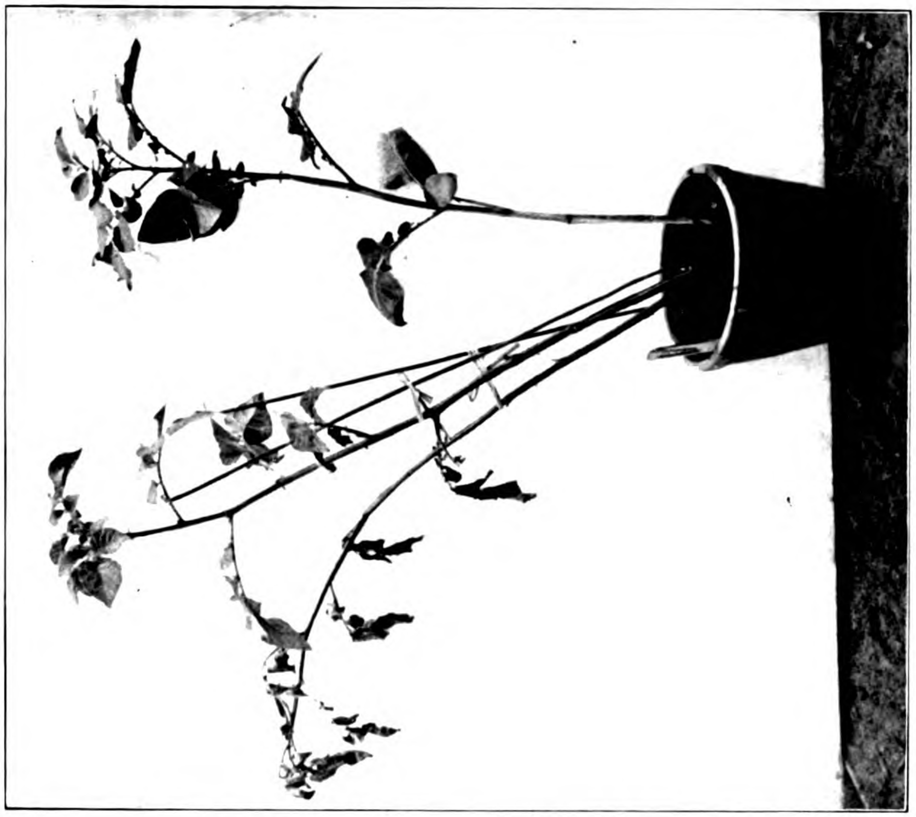


Fig. 5.

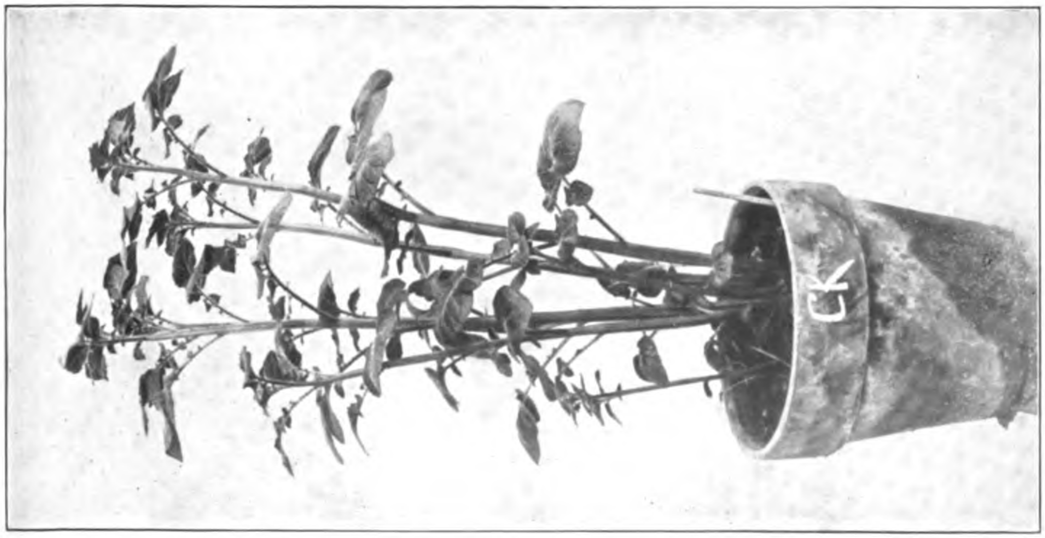


Fig. 4.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison,** *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

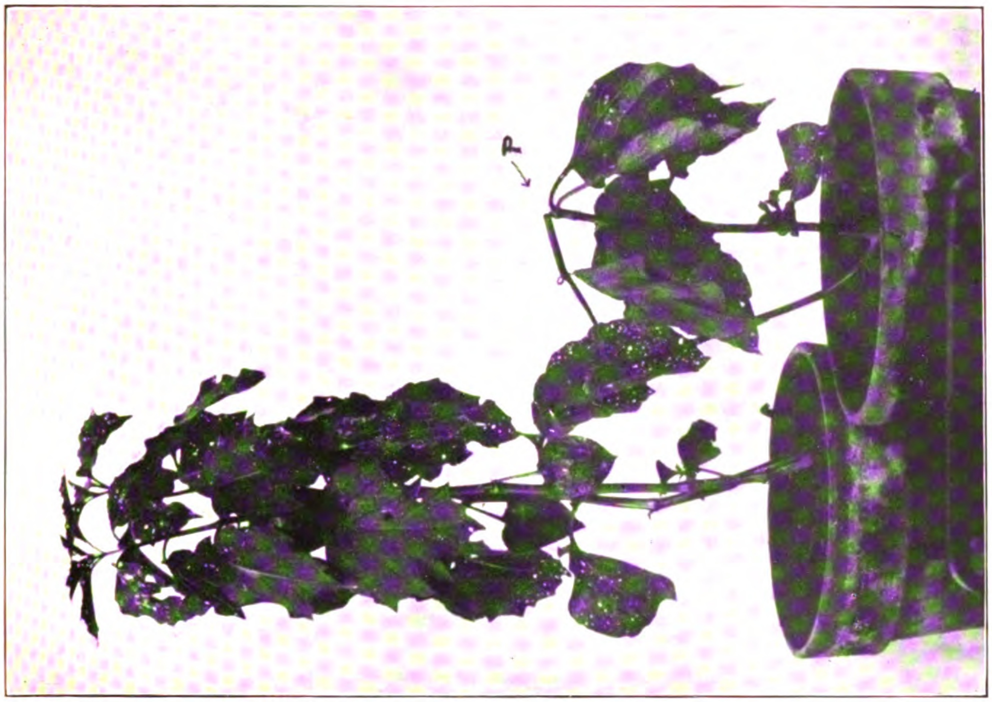


Fig. 7.

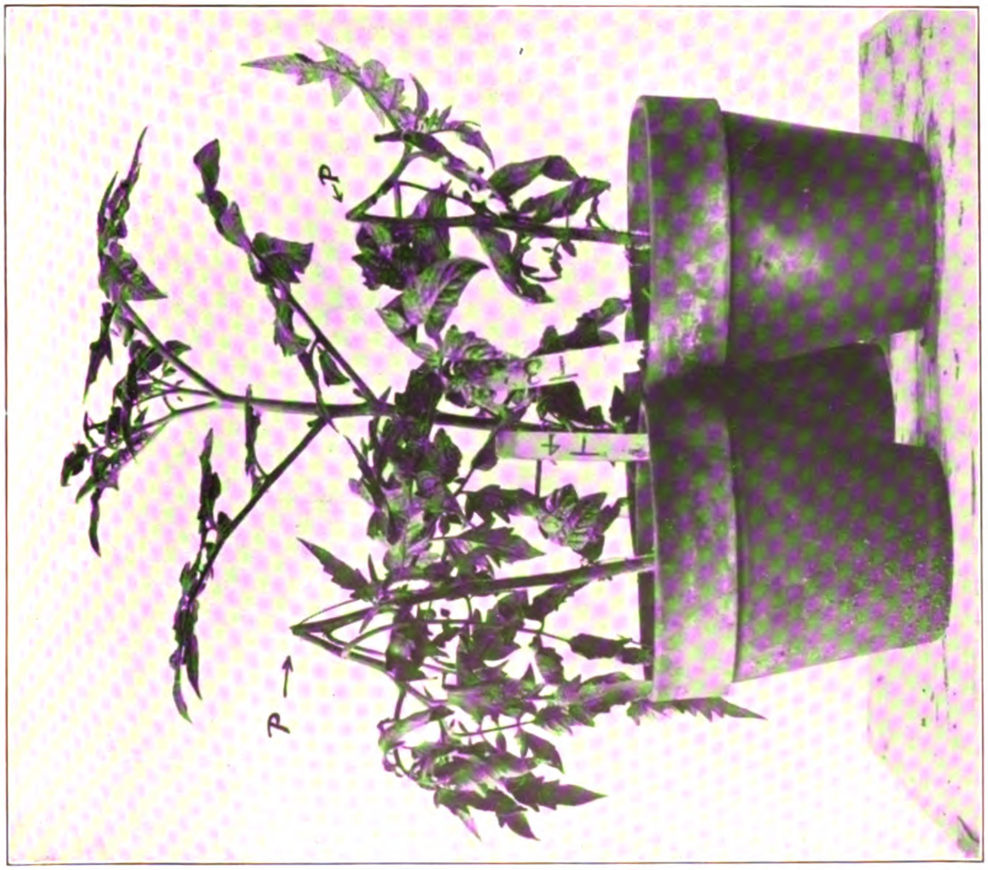


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison**, *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

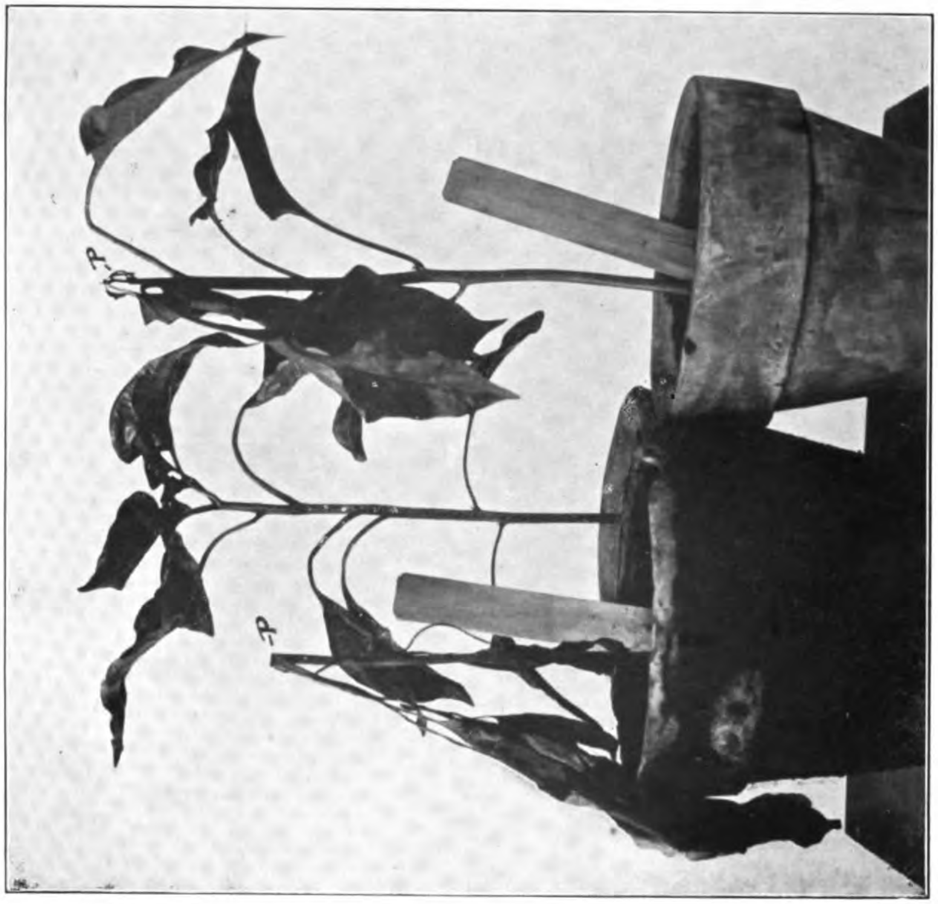


Fig. 8.

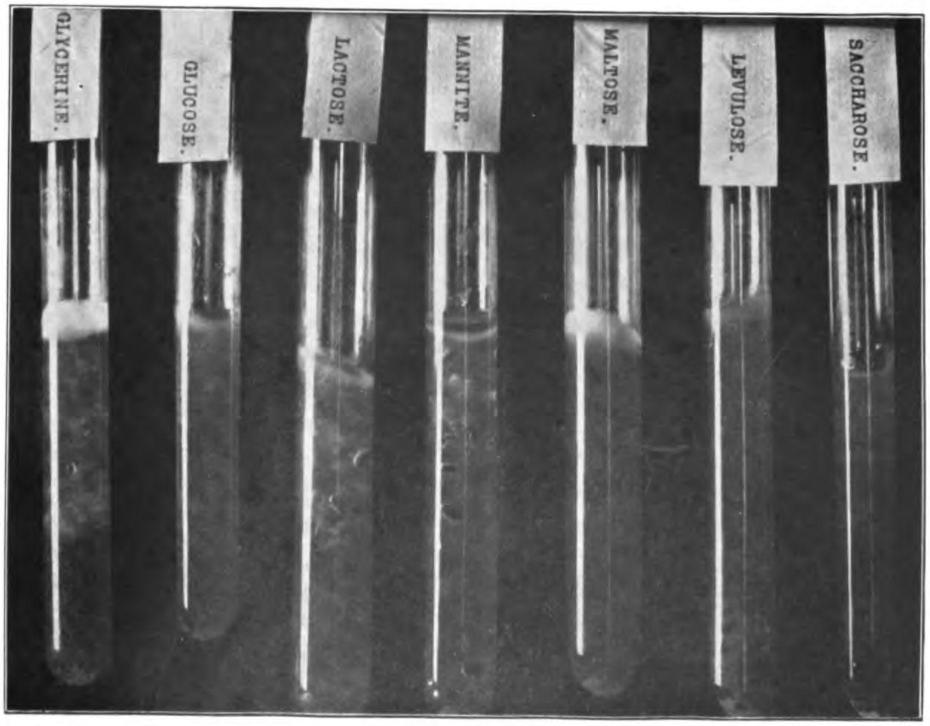



Fig. 9.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison,** *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

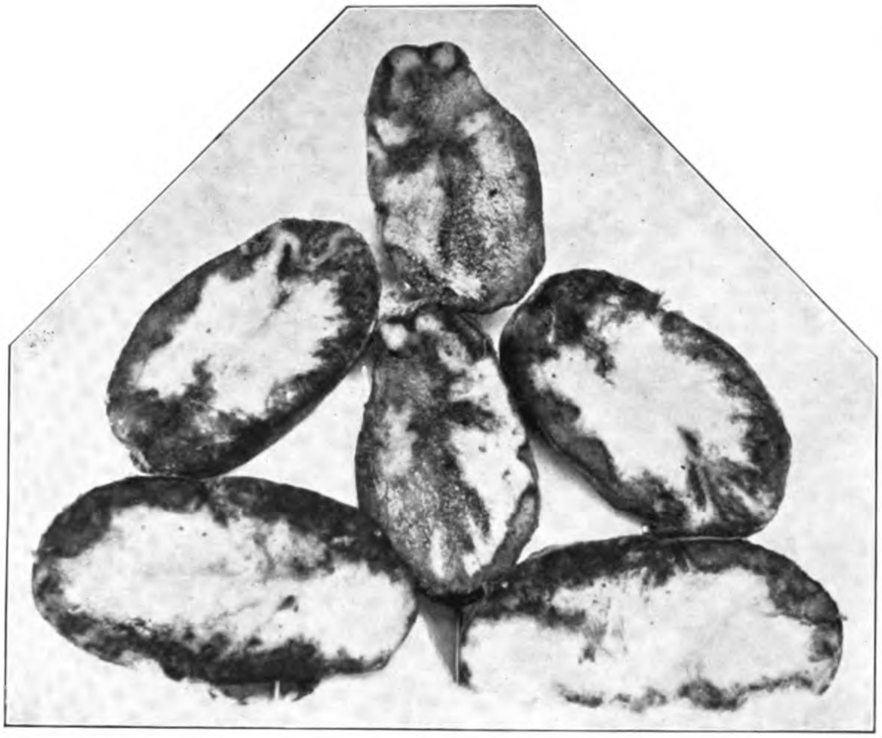


Fig. 10.

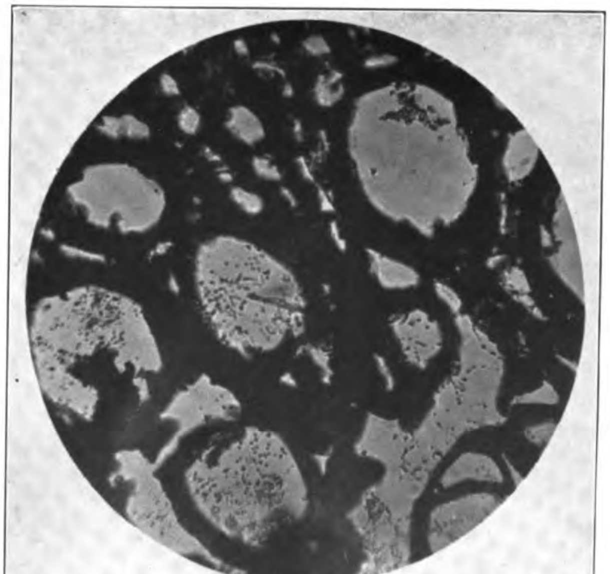


Fig. 13.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison,** *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

Fig. 11.

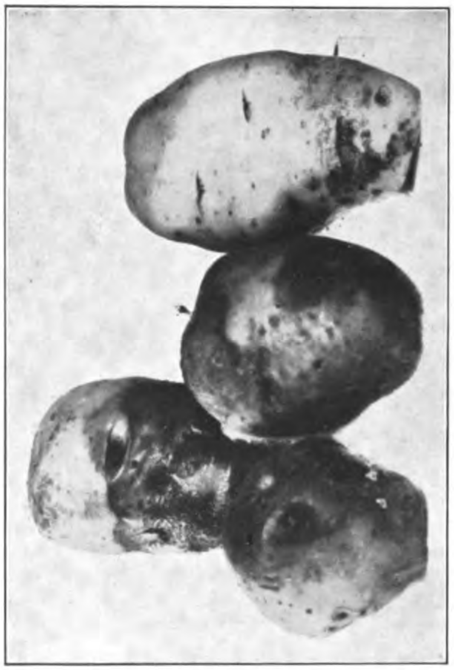


Fig. 12.

Fig. 15.

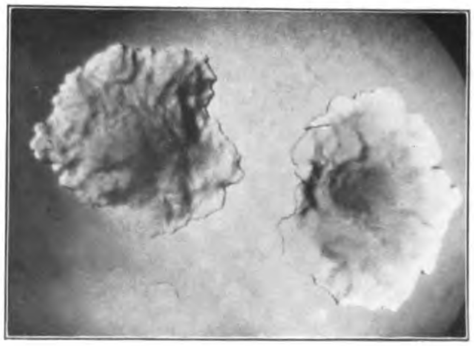


Fig. 14.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**F. C. Harrison**, *A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus.*

Fig. 16.

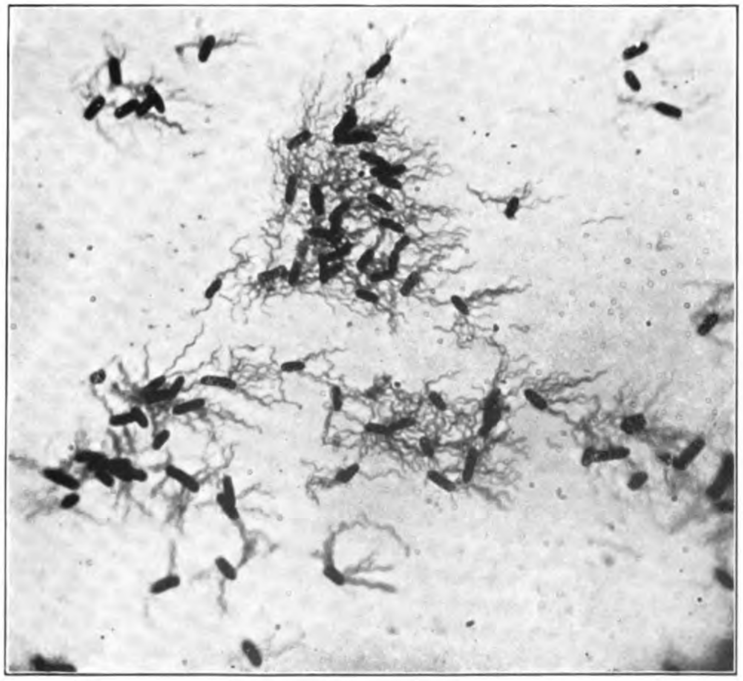


Fig. 17.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**Emil Molz,** *„Schwarzfäule" der Aepfel.*

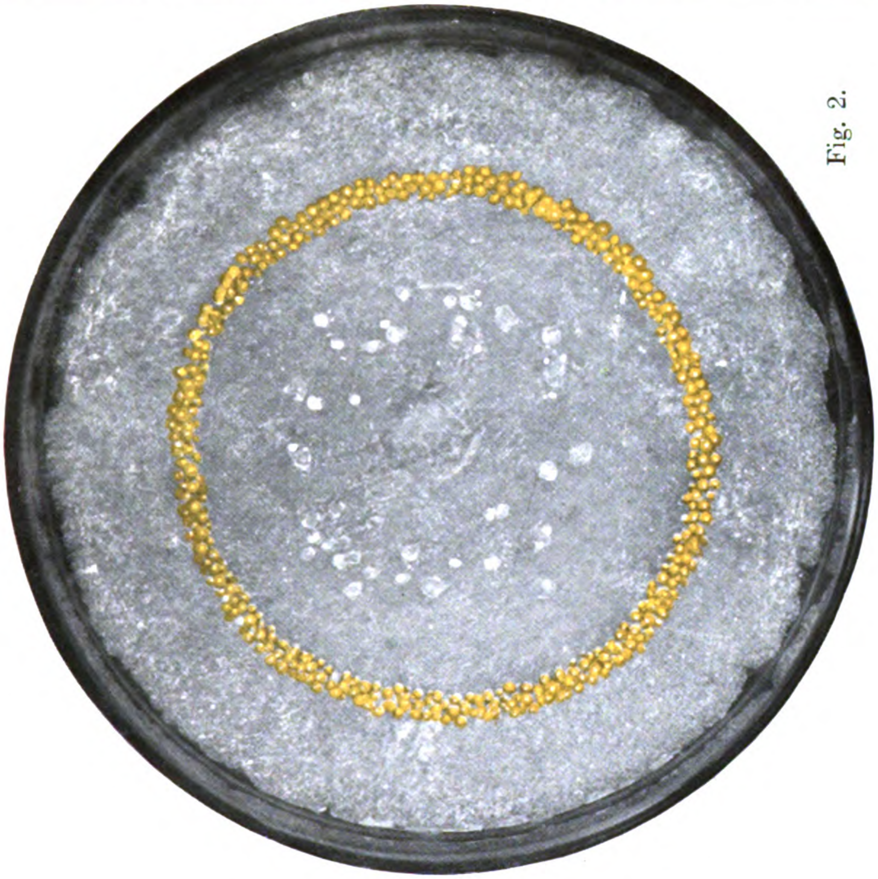


Fig. 2.

Fig. 1.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

**Emil Molz,** *„Schwarzfäule“ der Aepfel.*

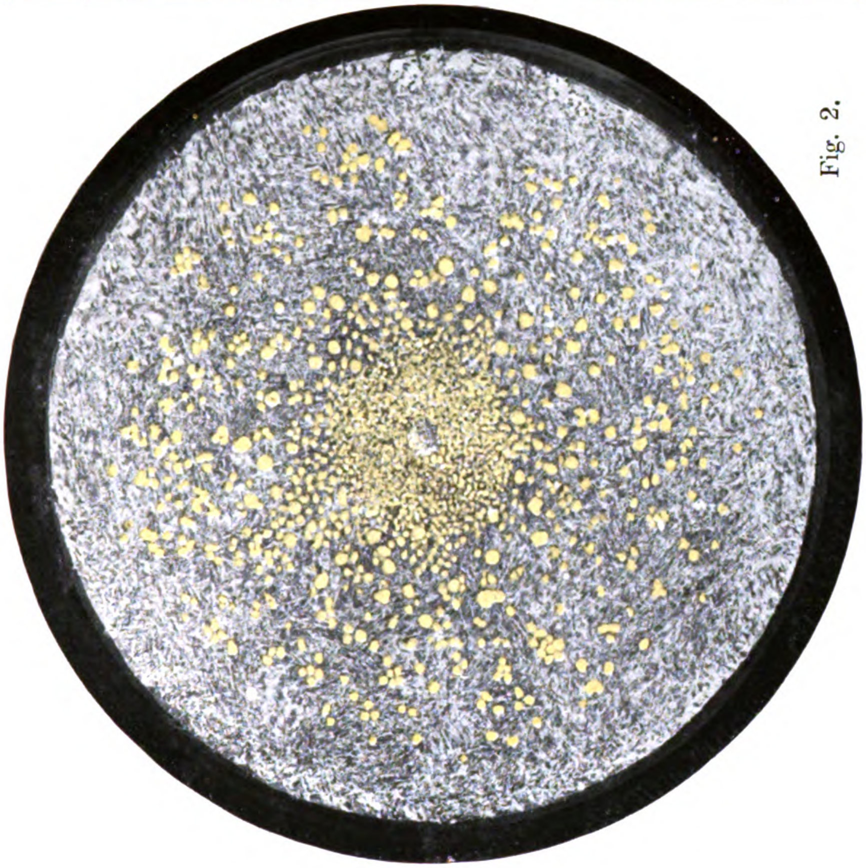


Fig. 2.

Fig. 1.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

***H. B. Hutchinson,* Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.**

Fig. 11.

Fig. 12.

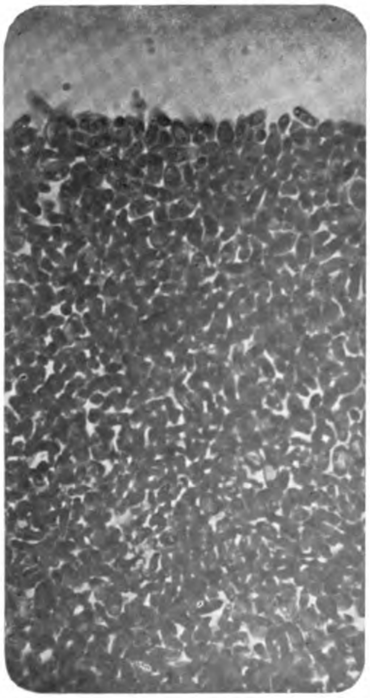


Fig. 13.

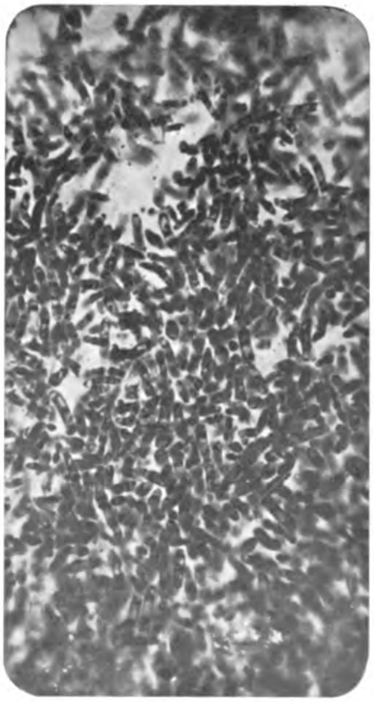


Fig. 14.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**H. B. Hutchinson,** *Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.*

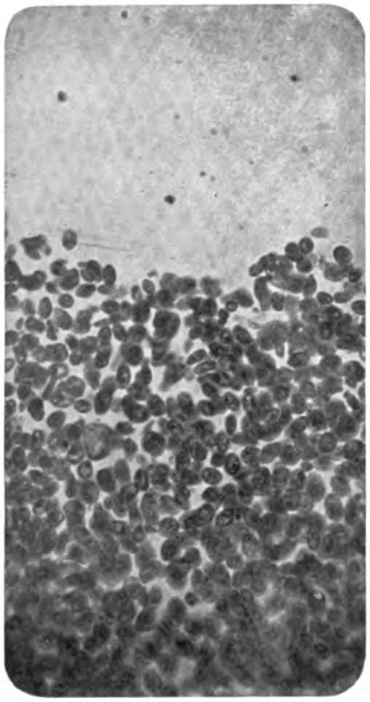


Fig. 15.

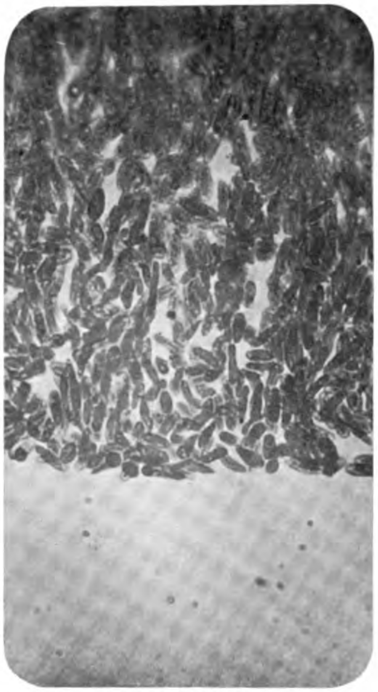


Fig. 16.

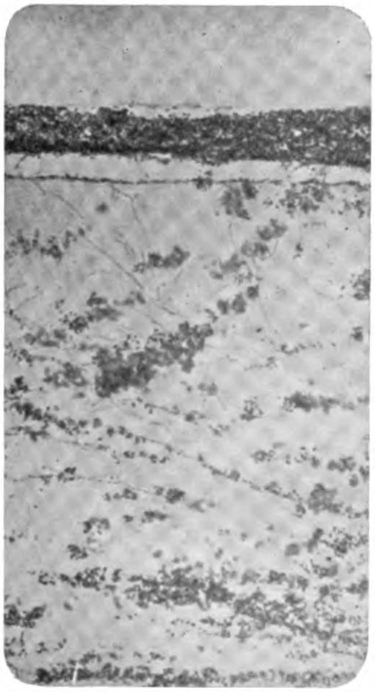


Fig. 17.

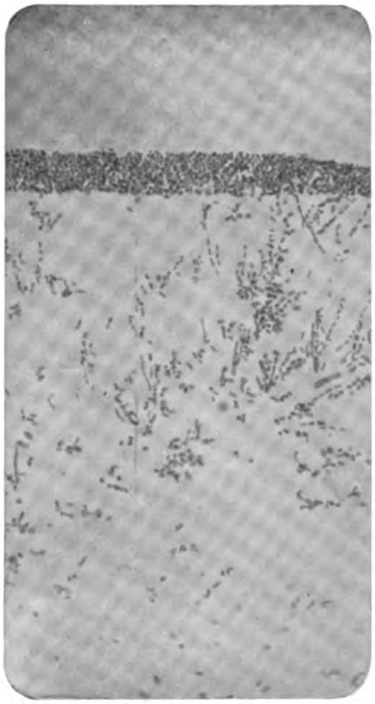


Fig. 18.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

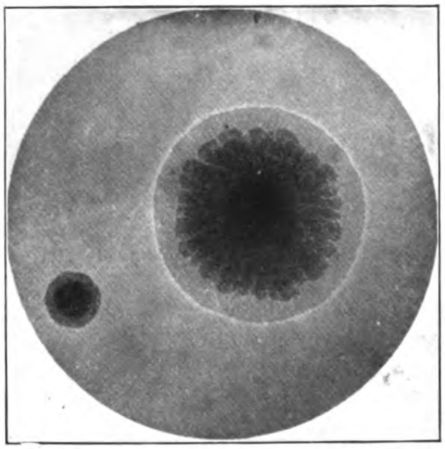


Fig. 1.

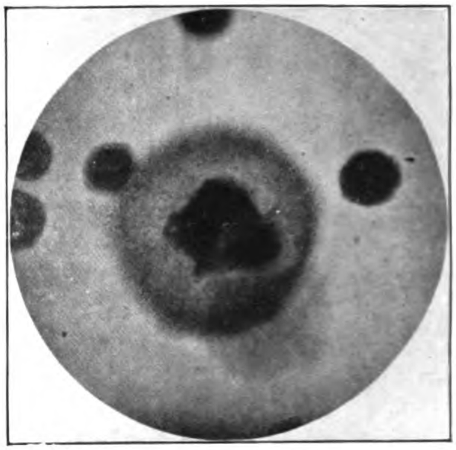


Fig. 2.

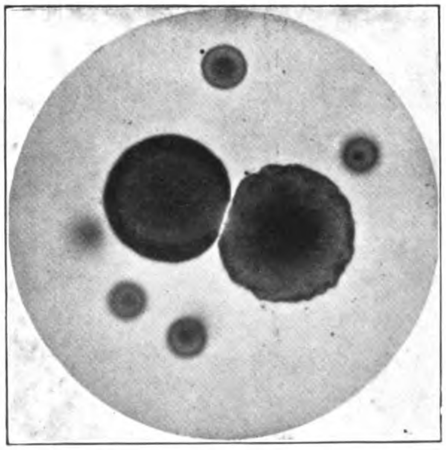


Fig. 5.

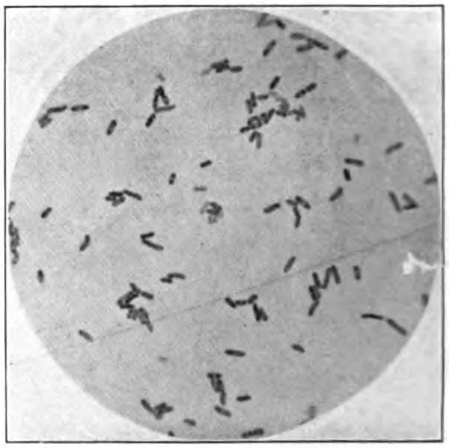


Fig. 6.

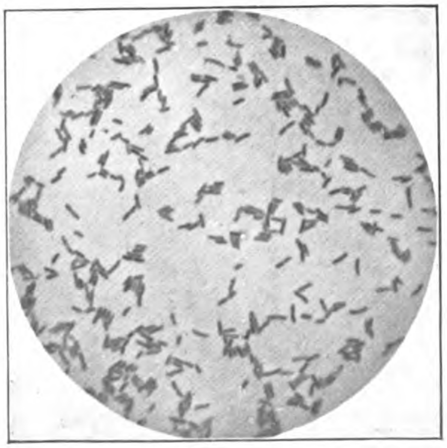


Fig. 9.

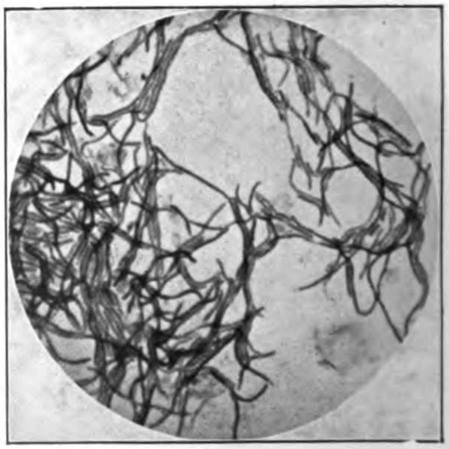


Fig. 10.

Verlag von Gusta

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

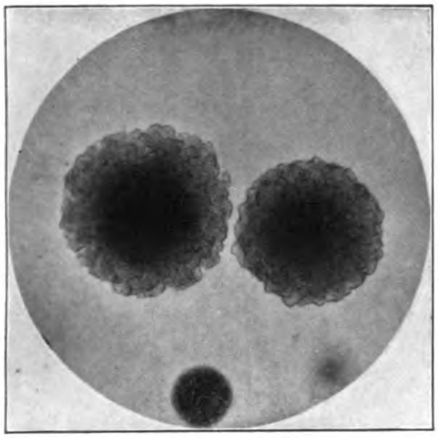


Fig. 3.

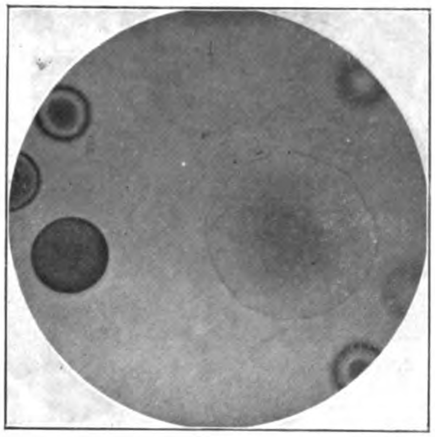


Fig. 4.

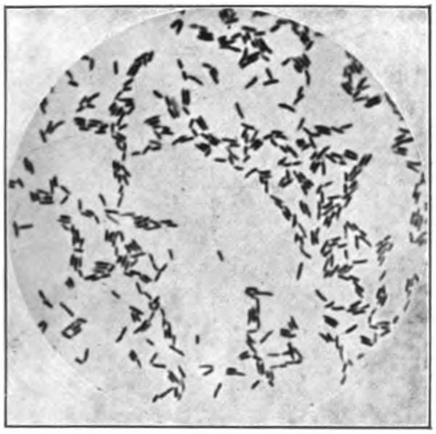


Fig. 7.

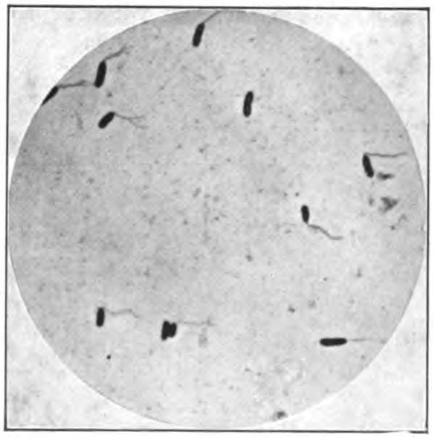


Fig. 8.

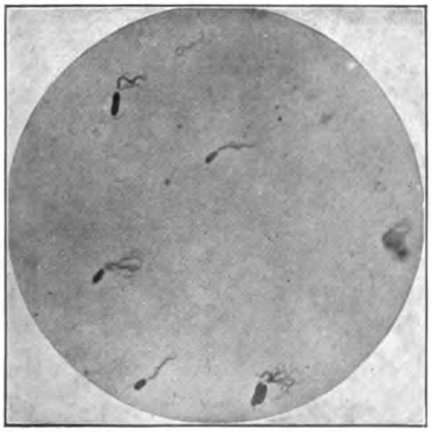


Fig. 11.

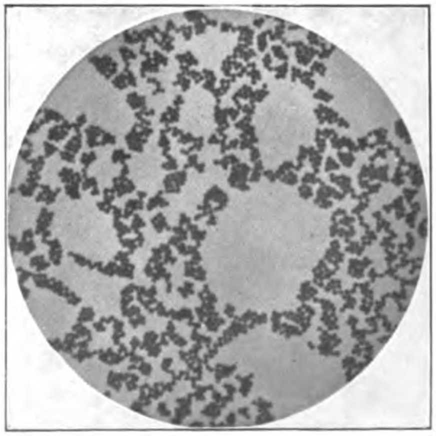


Fig. 12.

Fischer in Jena.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

**Paul Cruchet**, *Étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées.*

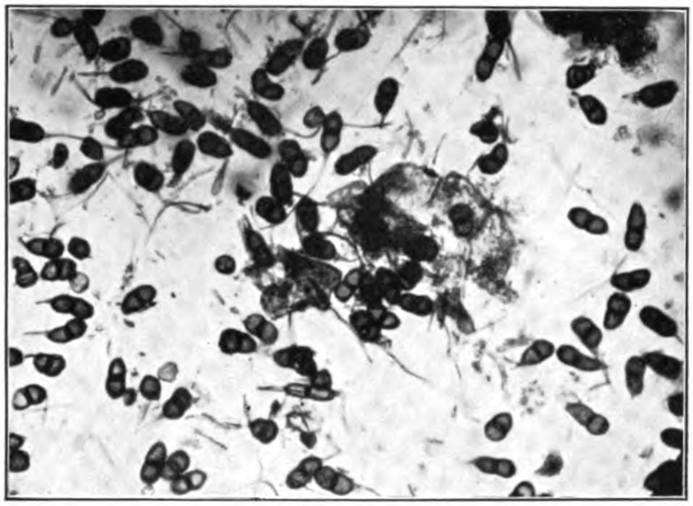


Fig. 1.

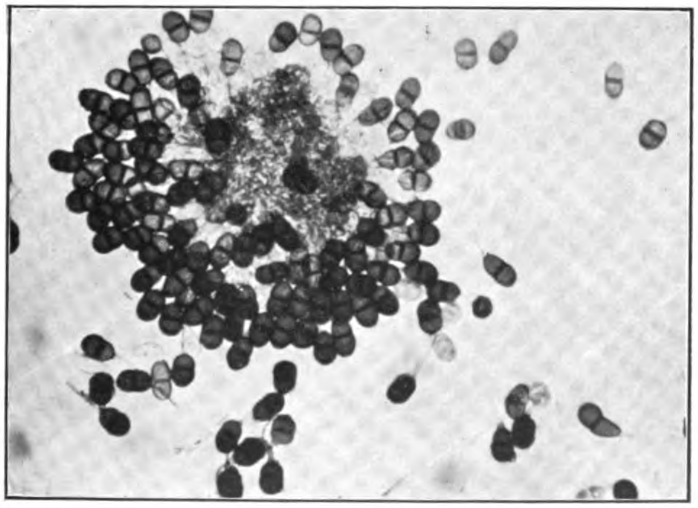


Fig. 2.

Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Fig. 1. 1090/1.

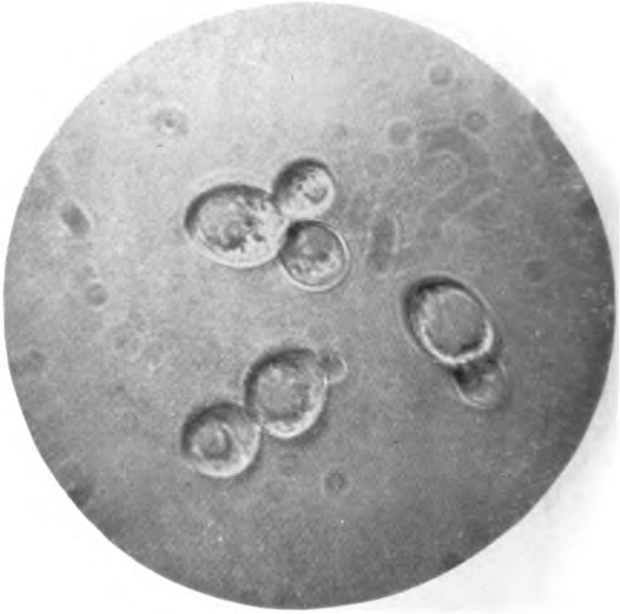


Fig. 2. 1090/1.

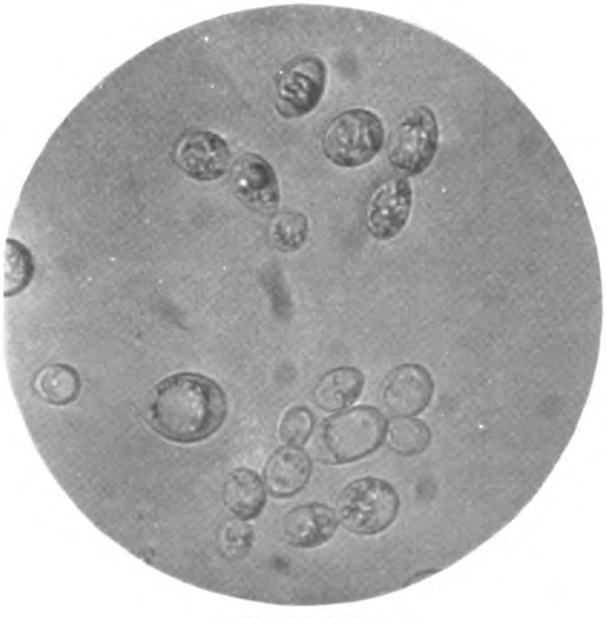


Fig. 5. 925/1.

Fig. 6. 925/1.

Verlag von Gusta

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

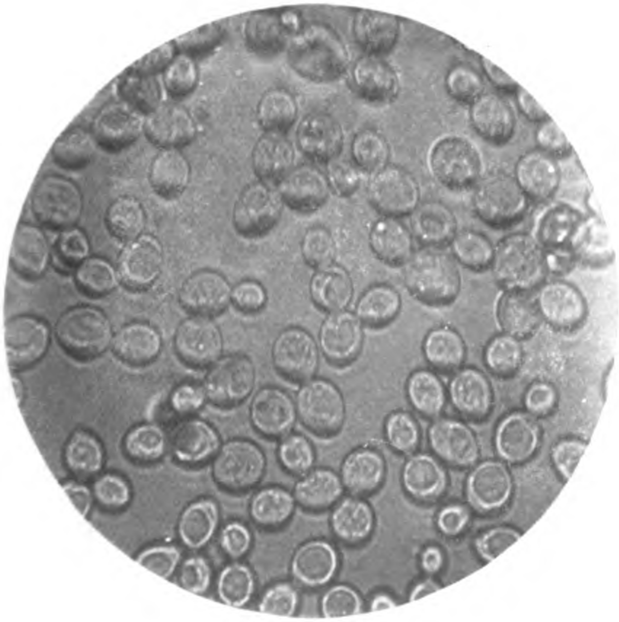


Fig. 3. $^{640}/_{1}$.

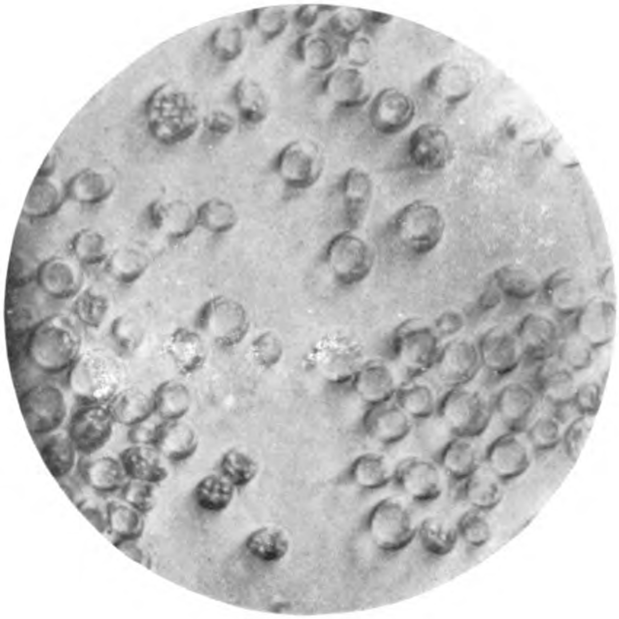


Fig. 4. $^{640}/_{1}$.

Fig. 7. $^{925}/_{1}$.

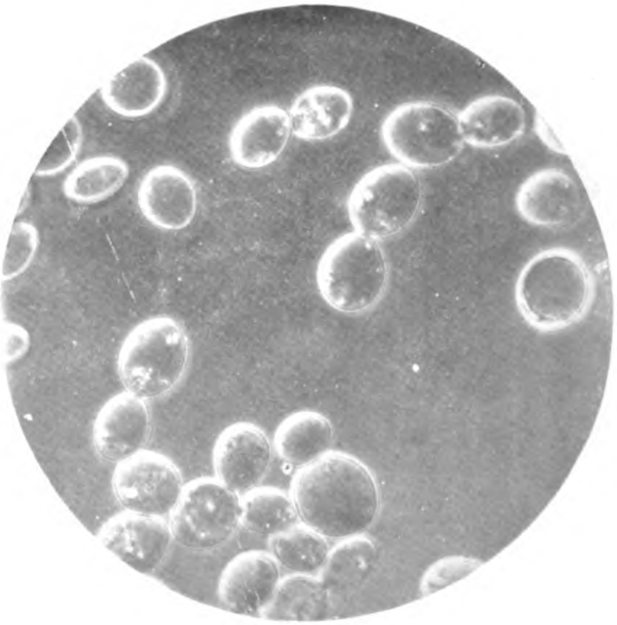


Fig. 8. $^{925}/_{1}$.

Fischer in Jena.

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

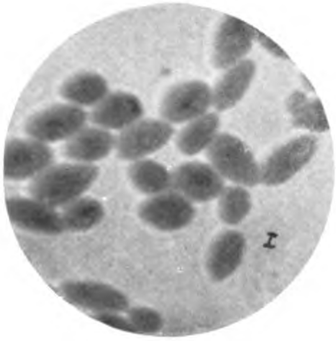


Fig. 9. $^{925}/_1$.

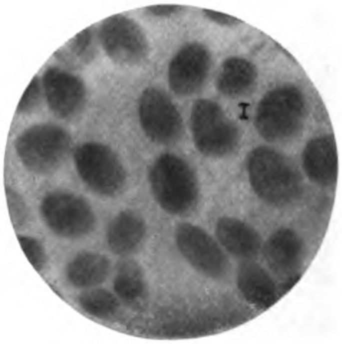


Fig. 10. $^{925}/_1$.

Fig. 13. $^{880}/_1$.

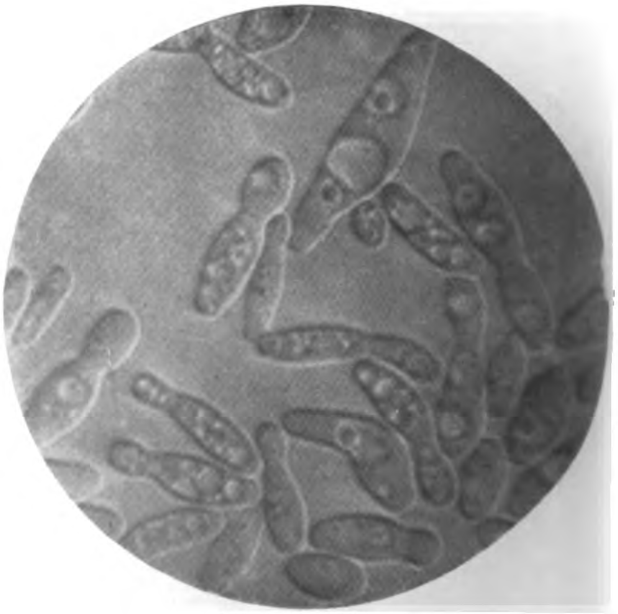


Fig. 14. $^{880}/_1$.

Verlag von Gust

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

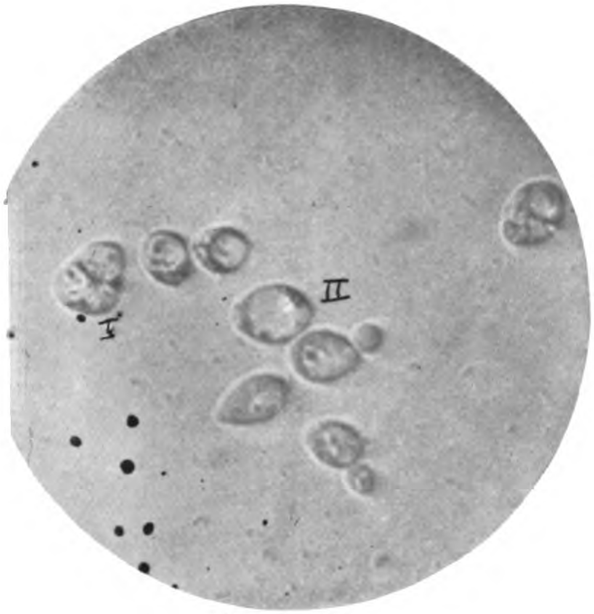



Fig. 11. 880/1.

Fig. 12. 1090/1.

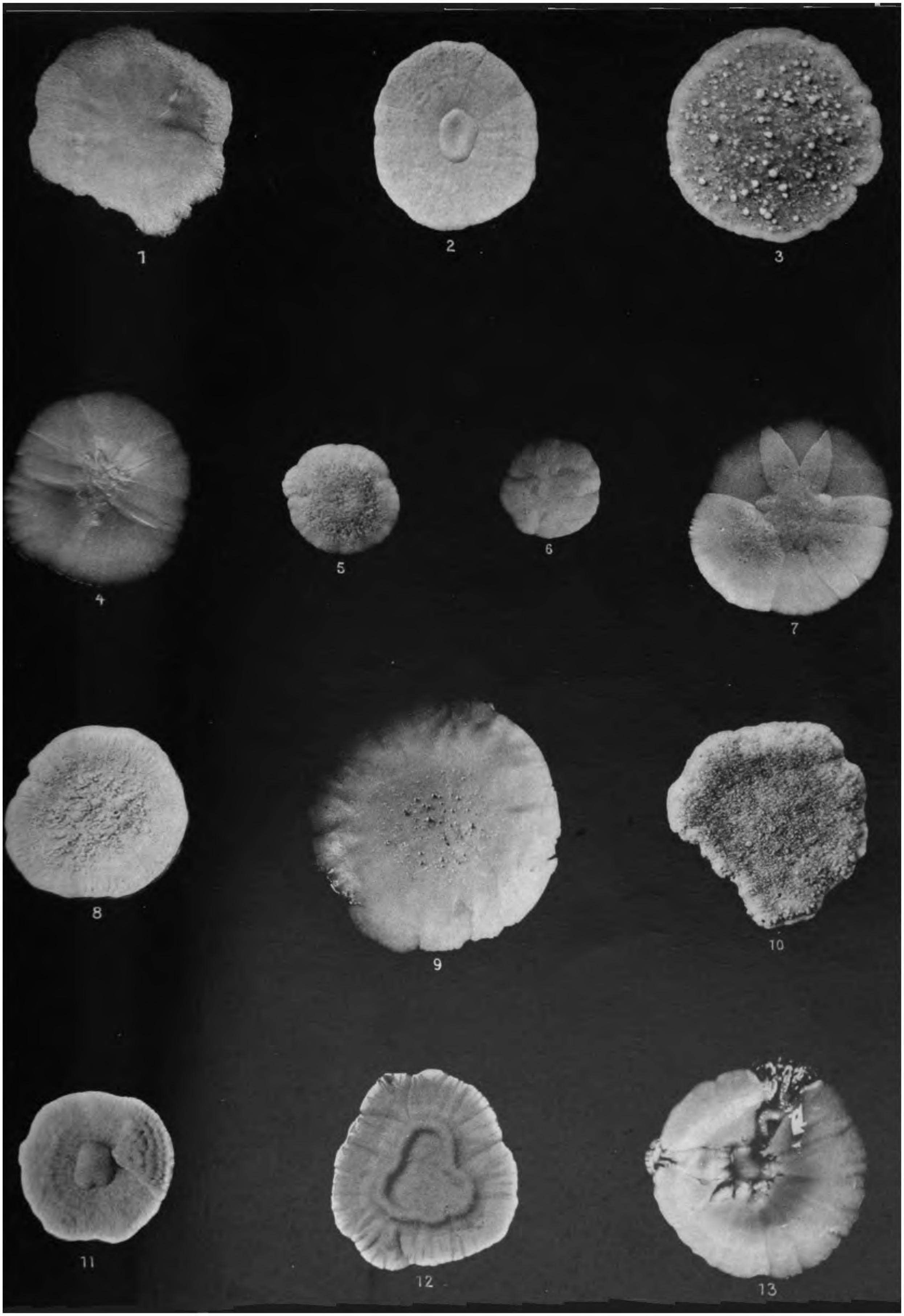
Fig. 15. 880/1.

Fig. 16. 680/1.



Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY




Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY

H. Will, Sprosspilze ohne Sporenbildung.

Digitized by Google

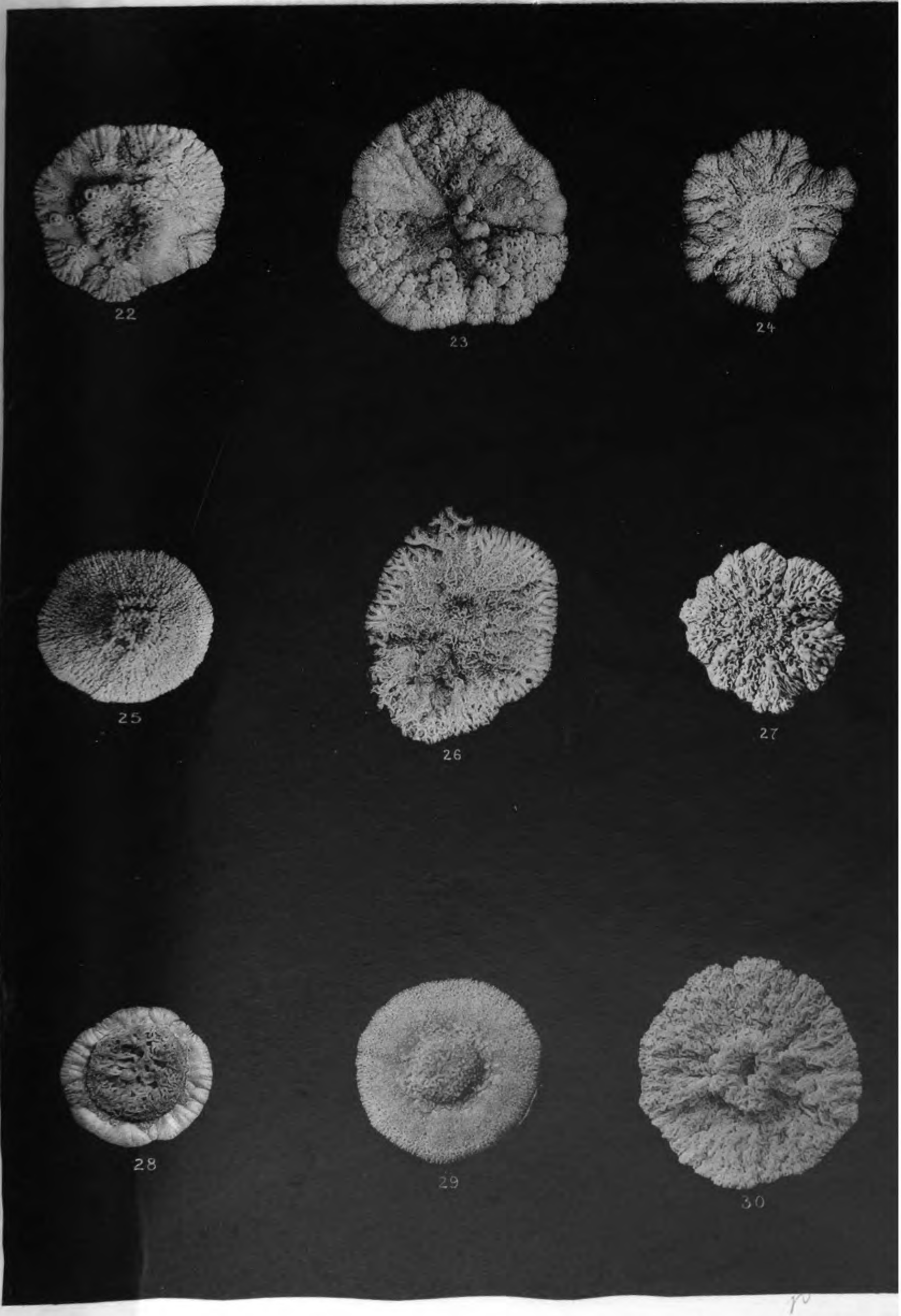
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Original from HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

H. Will, Sprosspilze ohne Sporenbildung.




Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from HARVARD UNIVERSITY
Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY

Generated on 2019-09-21 16:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044106401698
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
HARVARD UNIVERSITY